



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Megan Josie Alves André

FORMULAÇÃO DE FARINHAS COM POTENCIAIS
BENEFÍCIOS NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS
NEURODEGENERATIVAS

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar orientada
pelo Professor Doutor Fernando Jorge dos Ramos e coorientação
pela Professora Doutora Edite Maria Relvas Neves Teixeira
Lemos e apresentada à Faculdade de Farmácia da
Universidade de Coimbra

Fevereiro de 2023

1 2 9 0



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Megan Josie Alves André

**FORMULAÇÃO DE FARINHAS COM POTENCIAIS
BENEFÍCIOS NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS
NEURODEGENERATIVAS**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar orientada pelo Professor Doutor Fernando Jorge dos Ramos e coorientação pela Professora Doutora Edite Maria Relvas Neves Teixeira Lemos e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Fevereiro de 2023

Agradecimentos

Assim dou por terminada mais uma etapa da minha vida, uma etapa difícil de realizar, que teve os seus momentos altos e baixos, que sem o apoio das pessoas certas não seria possível de se realizar.

Assim, antes de terminar preciso de agradecer a quem me ajudou e apoiou a tornar esta etapa possível e mais fácil ao longo do caminho:

Agradeço à Professora Doutora Edite Teixeira de Lemos e ao Professor Doutor Fernando Ramos por todo o apoio e ajuda que me disponibilizaram para realizar esta etapa e principalmente pela paciência que tiveram comigo ao longo deste desafio que não foi tão linear como esperava.

À Senhora D. Anabela Pinto e ao Professor Doutor André Pereira, por toda a disponibilidade e paciência que tiveram para me ajudar em laboratório na etapa da análise centesimal.

Agradeço a todos os meus amigos mais próximos, que me incentivaram e apoiaram a ultrapassar este desafio.

Ao Ricardo por me ter apoiado incondicionalmente neste percurso, pela motivação para completar esta fase e por nunca me deixar desistir.

Por último, agradeço à minha família, à minha mãe, à minha irmã, ao meu padrasto e à minha sobrinha, que são o pilar da minha vida, sem eles não teria a motivação para ultrapassar esta etapa tão importante da minha vida, são o meu maior apoio e sem eles nada desta fase seria possível.

A todos os que se cruzaram comigo neste caminho e que o tornaram possível, um
muito obrigada!

Índice

Agradecimentos	i
Índice	ii
Índice de Tabelas.....	iii
Índice de Figuras.....	iv
Lista de Abreviaturas	v
Resumo	vi
Abstract	viii
1. Introdução.....	1
2. Doença de Alzheimer, prevalência e custos globais.....	3
3. Eixo intestino-cérebro e o impacto na doença de Alzheimer	6
4. Diagnóstico	7
5. Tratamentos farmacológicos disponíveis para a Doença de Alzheimer	7
6. Papel da nutrição e alimentação na prevenção / atraso da Doença de Alzheimer.....	8
6.1. A Dieta Mediterrânica e a Dieta MIND.....	8
7. Formulações nutricionais para a doença de Alzheimer	10
8. Alimentos com potenciais benefícios nas doenças neurodegenerativas utilizados na formulação.....	12
8.1. Película de uva.....	12
8.2. Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	16
8.3. Pinhão	18
8.4. Ovoalbumina	20
9. Materiais e Métodos	21
9.1. Reagentes.....	21
9.2. Equipamentos e materiais.....	22
9.3. Formulação de um produto com potencial utilização na doença neurodegenerativa 22	
9.4. Preparação das formulações 1 e 2	23
9.5. Preparação do feijão.....	23
9.6. Preparação do pinhão	23
9.7. Preparação das películas de uva.....	24
9.8. Preparação da albumina de ovo.....	25
10. Composição centesimal das formulações.....	26
10.1. Determinação da humidade por perda de peso, por aquecimento.....	27
10.2. Determinação da matéria gorda.....	27
O teor de matéria gorda foi determinado pelo método de Soxhlet de acordo com o descrito na NP-1224 (2002) utilizando o éter de petróleo como solvente.....	27
10.3. Determinação do teor de minerais totais	29
A determinação do teor de minerais totais foi realizada consoante o descrito na NP-872 (1983).	29
10.4. Determinação da proteína bruta	30
O teor de proteína bruta foi determinado pelo método de Kjeldahl de acordo com o descrito na NP-1996 (1982) em que se determina o teor de Azoto para se poder calcular o teor de proteína bruta.....	30
10.5. Determinação da fibra bruta	32
A fibra bruta foi determinada pelo método de Weende (AOAC,1975) que consiste na digestão ácida e na digestão alcalina da amostra.	32
11. Resultados e Discussão.....	34
12. Conclusão	37
14. Referências Bibliográficas.....	39

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Trabalhos científicos que evidenciam o papel da dieta na função cognitiva [43-45]	10
Tabela 2 - Composição, modo de ação, resultados de ensaios e limitações dos ensaios das formulações nutricionais para a doença de Alzheimer	11
Tabela 3 - Trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos da uva na doença de Alzheimer [51, 55-57].....	15
Tabela 4 - Composição nutricional do feijão branco (Adaptado do INSA [61])	16
Tabela 5 - Trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos de diferentes espécies de feijão na doença de Alzheimer [62, 63]	18
Tabela 6 - Composição nutricional do miolo de pinhão (Adaptado do INSA [61]).....	19
Tabela 7 - Trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos do pinhão na doença de Alzheimer [67, 68].....	20
Tabela 8 - Trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos da albumina de ovo na doença de Alzheimer [70, 71].....	21
Tabela 9 - equipamentos utilizados no trabalho laboratorial.....	22
Tabela 10 - Parâmetros avaliados e o método/protocolo utilizado	26
Tabela 11 - Pesos das cápsulas e amostra antes de irem para a estufa.....	27
Tabela 12 - Peso das cápsulas depois de estarem na estufa.....	27
Tabela 13 - Pesos das amostras em cada cápsula.....	29
Tabela 14 - Pesos iniciais e finais dos balões	29
Tabela 15 - Pesos dos cadinhos e das amostras	30
Tabela 16 - Pesos finais dos cadinhos	30
Tabela 17 - Resultados da titulação	32
Tabela 18 - Peso inicial dos cadinhos, do peso dos cadinhos depois de saírem da estufa e do peso dos cadinhos depois de saírem da mufla	33
Tabela 19 - Resultados em percentagem da análise centesimal (Humidade, matéria gorda, teor de minerais totais, proteína bruta e fibra bruta)	34
Tabela 20 - Resultados obtidos pelo laboratório colaborador	34
Tabela 21 - Resultados do perfil de aminoácidos do suplemento, obtido pelo laboratório de investigação colaborador	35
Tabela 22 - Dose diária recomendada de aminoácidos estimada por 3 organizações em conjunto, a WHO, a FAO e a UNU [72].....	36

Índice de Figuras

Figura 1 - Mecanismos envolvidos na patogénese da doença de Alzheimer. Fonte: NIH National institute on aging (Alzheimer's disease fact sheet).....	4
Figura 2 - Diferentes classes de polifenóis	13
Figura 3 - O impacto de compostos fenólicos bioativos capazes de passar a barreira hematoencefálica, na doença de Alzheimer. (Retirado de Pasinetti et al., 2014 [53]).....	14
Figura 4 - Feijão branco seco moído.....	23
Figura 5 - Miolo de pinhão moído.....	24
Figura 6 - Películas de uvas já separadas do sumo e das grainhas.....	24
Figura 7 - Declaração nutricional das claras de ovo adquiridas do supermercado.....	25
Figura 8 - Etapas da elaboração da farinha.....	26
Figura 9 - Determinação da matéria gorda. A) cartuchos de papel com a amostra contida. B) Cartucho no balão do aparelho de extração. C) Introdução de éter de petróleo no balão do aparelho de extração. D) Balão na manta. E) Balão em banho-maria no evaporador rotativo.	28
Figura 10 - Cadinhos com a amostra no banho de areia para a determinação do teor de minerais totais	30
Figura 11 - Determinação da proteína bruta. A) Tubo de mineralização com a amostra e pastilha de selénio. B) Adição de ácido sulfúrico ao tubo de mineralização. C) Colocação dos tubos no aparelho de mineralização até o líquido se tornar incolor. D) Tubo de mineralização e balão de Erlenmeyer no aparelho de destilação. E) e F) Viragem do indicador para amarelo depois da titulação	31
Figura 12 - Determinação da fibra bruta. A) Cartuchos de papel com a amostra desengordurada provenientes da determinação da matéria gorda. B) Cadinhos no Fibertec com ácido sulfúrico. C) Cadinhos no Fibertec depois da amostra ter sido filtrada e adicionada com NaOH.....	33

Lista de Abreviaturas

ADAS-Cog: Escala de avaliação da Doença de Alzheimer – subescala cognitiva do inglês *The Alzheimer's Disease Assessment Scale – Cognitive Subscale*

ApoE4: Gene apolipoproteína 4

A β : Peptídeo Beta-amilóide

BACE1: Beta-secretase I

DA: Doença de Alzheimer

DASH: Abordagens dietéticas para travar a hipertensão do inglês *Dietary approaches to stop hypertension*

ECA: Enzima conversora da angiotensina

FAO: *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

GSE: Extrato de pele de uva

HDL: Lipoproteína de alta densidade

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

MeDi: Dieta Mediterrânea

MIND: Intervenção dietética mediterrânica-DASH para o atraso neurodegenerativo do inglês *Mediterranean-DASH diet intervention for neurodegenerative delay*

ROS: Espécies reativas de oxigênio

SAMP8: Rato de senescência acelerada do inglês *Senescence accelerated mouse-prone 8*

SNC: Sistema Nervoso Central

SNE: Sistema Nervoso Entérico

UNU: *United Nations University*

WHO: *World Health Organization*

Resumo

Atualmente, o número de casos de doença de Alzheimer tem vindo a aumentar com o envelhecimento da população, tendo esta doença um grande impacto a nível económico e na saúde pública.

A revisão bibliográfica deste trabalho visa compreender qual a melhor alternativa de prevenção da doença de Alzheimer e qual a importância das terapias não farmacológicas na prevenção da mesma, analisando os benefícios da adoção de um estilo de vida ativo em conjunto com uma dieta adequada, com ênfase na dieta mediterrânica.

O objetivo primário deste trabalho foi a elaboração de uma farinha com potenciais efeitos positivos nas doenças neurodegenerativas e com capacidade de prevenção ou atraso de desenvolvimento das mesmas, utilizando produtos locais da dieta mediterrânica. Fizeram-se 2 formulações: a primeira composta por feijão seco, moído sob a forma de farinha, películas de uva, pinhão e albumina de ovo, e a segunda em que se utilizaram os mesmos ingredientes tendo-se apenas alterado as concentrações do pinhão e das películas de uva, que foram duplicadas. Para se atingir o objetivo primário, tiveram-se também em consideração os seguintes objetivos: a pesquisa bibliográfica que conduziu à escolha dos ingredientes da farinha, a elaboração da farinha, a análise da composição nutricional e a discussão dos resultados da análise nutricional.

De modo a comprovar a qualidade do produto formulado, efetuaram-se várias determinações, nomeadamente a humidade, o teor de minerais totais, a fibra, a proteína, a matéria gorda e o perfil de aminoácidos, que constituíram a composição nutricional.

O produto obteve resultados positivos em relação ao que era esperado, tendo um alto teor de fibra, proteína e gorduras monoinsaturadas e polinsaturadas. Também o perfil de aminoácidos do produto teve resultados positivos, o que pode auxiliar num regime alimentar variado a atingir a dose diária recomendada de aminoácidos essenciais.

Desta forma, analisando a composição do produto e a revisão bibliográfica deste trabalho, pode-se acreditar que o produto pode ter potenciais benefícios na prevenção de doenças neurodegenerativas, sendo necessário realizar ensaios clínicos para saber se o produto tem o efeito pretendido.

Palavras-chave: doenças neurodegenerativas; doença de Alzheimer; dieta mediterrânea; compostos bioativos; feijão branco; películas de uva; pinhão; albumina de ovo; suplemento alimentar.

Abstract

Currently, the number of Alzheimer's disease cases has been increasing with the aging of the population, with this disease having a great impact on the economy and public health.

The bibliographic review of this work aims to understand the best alternative for preventing Alzheimer's disease and the importance of non-pharmacological therapies in its prevention, analysing the benefits of combining an active lifestyle with an adequate diet, with emphasis in the Mediterranean diet.

The main objective of this work was the elaboration of a flour with potential positive effects on neurodegenerative diseases and with the ability to prevent or delay their development, using local products from the Mediterranean diet. Two formulations were made: the first composed of dried beans, ground in the form of flour, grape skins, pine nuts and egg albumin, and the second in which the same ingredients were used, only changing the concentrations of pine nuts and grape skins, which were duplicated. In order to reach the primary objective, the following objectives were also taken into account: the bibliographical research that led to the choice of the flour ingredients, the elaboration of the flour, the analysis of the nutritional composition and the discussion of the results of the nutritional analysis.

To prove the quality of the formulated product, several determinations were carried out, namely moisture, total mineral content, fibre, protein, fat and amino acid profile, which constituted the nutritional composition.

The product obtained positive results in relation to what was expected, having a high content of fibre, protein and monounsaturated and polyunsaturated fats. The product's amino acid profile also had positive results, which can help with a varied diet to reach the recommended daily dose of essential amino acids.

In this way, analysing the composition of the product and the bibliographic review of this work, it can be believed that the product may have potential benefits in the prevention of neurodegenerative diseases, being necessary to carry out clinical trials to find out if the product has the intended effect.

Keywords: neurodegenerative diseases; Alzheimer's disease; mediterranean diet; bioactive compounds; white beans; grape skins; pine nut; egg albumin; food supplement.

I. Introdução

As doenças neurodegenerativas são caracterizadas por uma perda progressiva da estrutura e função neuronal, levando à morte dos neurónios. Estas doenças podem ser divididas em agudas ou crónicas [1].

As doenças neurodegenerativas mais comuns são a doença de Alzheimer, a doença de Parkinson e a Esclerose Lateral Amiotrófica, sendo as três doenças neurodegenerativas crónicas, geralmente caracterizadas por comprometimento da fala, alterações na personalidade, demência e fraqueza muscular progressiva [1, 2].

Em 1906, Alois Alzheimer, um psiquiatra e neuropatologista alemão, descreveu, pela primeira vez, a doença num paciente como “um processo peculiar de doença grave do córtex cerebral”. Desde então a doença foi designada com o nome de Alzheimer, não existindo ainda uma cura ou tratamento para regressão da doença [3, 4].

Devido ao envelhecimento da população e ao aumento da esperança média de vida, existe também um aumento de casos de demência, contando com cerca de 50 milhões de casos que podem vir a duplicar até 2040 [5]. Sendo a doença de Alzheimer a forma mais comum de demência e é reconhecida como um problema de saúde global prioritário [6].

Visto que a doença de Alzheimer é prevalente na população mais idosa, é importante realçar que esta população é mais frágil e com tendência a sofrer de condições físicas que acabam por desenvolver uma má nutrição neste grupo de risco [7].

Não existindo nenhum tratamento direcionado para a regressão da doença e devido à falta de eficácia da terapia farmacológica existente, as terapias não farmacológicas têm recebido particular atenção na investigação em relação à doença de Alzheimer [8]. A dieta mediterrânica tem vindo a ser reconhecida como um modelo saudável de dieta devido à sua associação à reduzida morbilidade e mortalidade. Esta dieta é caracterizada por um consumo elevado de vegetais, legumes, frutas e cereais, por um consumo moderado a alto de peixe, um consumo baixo a moderado de laticínios, um consumo baixo de carnes, um consumo moderado de vinho, que utiliza o azeite como gordura primária, e que tem um consumo baixo de gorduras saturadas. Vários estudos associam uma maior adesão à dieta mediterrânica a um risco menor de desenvolvimento da doença de Alzheimer [8, 9].

Desta forma, é importante criar alternativas acessíveis e seguras que se possam focar na prevenção da doença de Alzheimer visto que, a população mais afetada por esta doença, é a população mais idosa.

A formulação proposta para o suplemento criado neste trabalho consiste em alimentos que estão integrados na dieta mediterrânica, que têm um baixo custo e que podem ser obtidos através do aproveitamento de subprodutos. Neste caso, os ingredientes escolhidos para a formulação foram o feijão branco, que foi moído sob a forma de farinha, pinhão que foi também moído sob a forma de farinha, películas de uva que foram separadas do sumo e das grainhas e por fim, albumina de ovo que foi adquirida em supermercado.

Em 2015 todos os Estados-Membros adotaram a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável que se baseia em 17 objetivos. O desenvolvimento deste trabalho pode-se enquadrar em 2 dos objetivos propostos, sendo um deles o objetivo nº2 que é Erradicar a Fome que assenta no objetivo de “acabar com a fome e garantir o acesso de todas as pessoas, em particular os mais pobres e pessoas em situações vulneráveis, incluindo crianças, a uma alimentação de qualidade, nutritiva e suficiente durante todo o ano” e o outro, o objetivo nº12 que é a Produção e Consumo Sustentáveis que assenta em “reduzir o desperdício global de alimentos na produção e consumidor. Alcançar a gestão ambientalmente saudável de produtos químicos ao longo de seu ciclo de vida. Reduzir substancialmente a geração de resíduos por meio da prevenção, redução, reciclagem e reutilização” [10].

A segurança alimentar e segurança dos alimentos são dois termos distintos, no entanto são dois termos que se interligam. A segurança alimentar é definida por, “quando todas as pessoas, em todos os momentos, têm acesso físico, social e económico a comida suficiente, segura e nutritiva que atendam às suas preferências alimentares e necessidades dietéticas para uma vida saudável e ativa” e sem a segurança dos alimentos, não existe segurança alimentar [11, 12].

É então aqui que surge o objetivo principal deste trabalho, através da abordagem nutricional apostar na criação de um suplemento com ingredientes naturais que tenha potenciais benefícios na prevenção da doença de Alzheimer e que seja seguro e acessível fisicamente e economicamente. Para se atingir o objetivo principal consideraram-se os seguintes objetivos deste trabalho: a pesquisa bibliográfica que conduziu à escolha dos ingredientes da farinha, a elaboração da farinha, a análise da composição nutricional e a discussão dos resultados da análise da composição nutricional da farinha.

2. Doença de Alzheimer, prevalência e custos globais

A doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva e irreversível. Numa fase inicial caracteriza-se por perda de memória a curto prazo, alterações de humor, incapacidade de aprender novas informações, dificuldade em encontrar palavras e desorientação viso espacial. Os doentes em fase avançada da doença sofrem de declínio cognitivo grave que podem, em última análise, causar perda de memória a longo prazo, alucinações e falta de autossuficiência [13].

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência, sendo atualmente a sexta causa principal de morte e espera-se que o número de casos triplique até 2050. Entre 3 a 9 anos após o diagnóstico, a DA acaba por conduzir à incapacidade e morte [13].

Relativamente à prevalência, a *Alzheimer Europe* publicou uma estimativa da prevalência de demência nos 27 países da União Europeia em 2018. Portugal encontrava-se em quarto lugar dos países com maior número de casos de demência, afetando cerca de 1,88% da população portuguesa, com maior incidência no sexo feminino do que no masculino. Foi ainda calculada a estimativa do número de casos para 2050, sendo este de 3,82% da população [14].

Do ponto de vista fisiopatológico, a DA é desencadeada pela deposição anormal de proteínas β -amilóides ($A\beta$) e TAU, conduzindo ao aparecimento de placas senis, à constituição de emaranhados neurofibrilares, à neuroinflamação, à disfunção sináptica e à morte neuronal que acaba por dar início ao declínio cognitivo. Estes eventos que conduzem ao declínio cognitivo podem preceder o início dos sintomas em 10 ou mais anos [15, 16].

A Figura 1 apresenta de forma resumida e esquemática os vários mecanismos possíveis implicados na patogénese da doença de Alzheimer e na sua progressão [17 - 22].

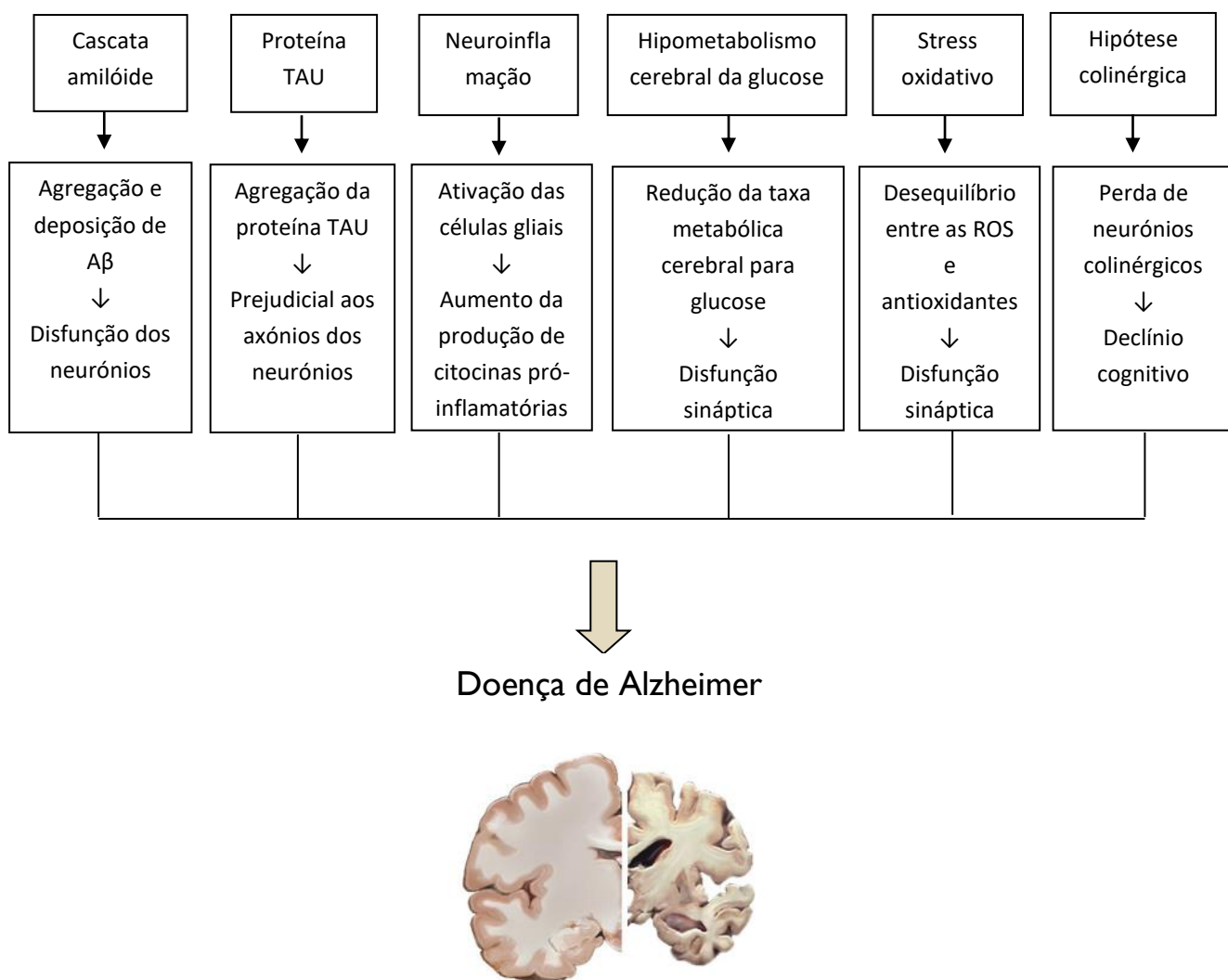


Figura I - Mecanismos envolvidos na patogénese da doença de Alzheimer.
 Fonte: NIH National institute on aging (Alzheimer's disease fact sheet)

A DA pode ser distinguida em três fases de evolução, a fase inicial que é uma fase assintomática, no entanto, irreversível. Nesta fase começam a observar-se pequenas alterações comportamentais como a pessoa começar a vaguear e a perder-se em pensamentos [23].

A segunda fase é a fase moderada, havendo nesta fase já um declínio leve do comportamento cognitivo, observam-se danos em áreas do cérebro que controlam as sensações, o raciocínio, a linguagem e os pensamentos conscientes, também podem ser observada a perda de memória e confusão nesta fase em alguns dos casos [23].

A última fase é a fase mais severa da doença, observando-se grandes mudanças no comportamento cognitivo, o tecido cerebral encolhe drasticamente e os neurónios perdem a capacidade de comunicarem, resultando numa demência grave e alucinações nos pacientes [23].

A idade mais comum para desenvolver a DA é 65 anos ou mais, estando envolvidos vários fatores de risco não modificáveis na génese da doença tais como, a idade, fatores genéticos e fatores hereditários. Acredita-se que a DA se desenvolve como resultado de múltiplos fatores em vez de um único fator [15].

Apesar de a idade, a genética e a história de saúde familiar serem fatores não modificáveis, há outros fatores modificáveis que podem ser alterados de modo a reduzir o risco de desenvolver demência, nomeadamente, o aumento da atividade física, a ausência de hábitos tabágicos, a manutenção de uma vida ativa social, a estimulação cognitiva e hábitos alimentares saudáveis [15].

Apesar de já existirem terapias farmacológicas para a redução de sintomas da DA, estudos mostram que estas podem não ser a melhor opção por poderem ter efeitos adversos associados ao seu uso. Por outro lado, as terapias não farmacológicas têm atraído muita atenção por terem demonstrado ser opções seguras, acessíveis e com potencial efeito de atrasar a progressão da doença em pacientes com a DA [24].

Como anteriormente referido, vários estudos indicam que os eventos patológicos da DA podem começar a aparecer muitos anos antes da sintomatologia, pelo que as estratégias de intervenção preventiva podem ajudar a reduzir o risco de desenvolver a doença [25].

Em 2010, a federação Alzheimer's Disease International estimou para a DA, custos globais indiretos e diretos em cerca de 550 mil milhões de euros localizados maioritariamente (70%) na Europa Ocidental e da América do Norte [25]. A mesma fonte estima que em 2030 os custos da doença poderão chegar a cerca de 1,8 biliões [27]. Calcula-se que em média o custo mensal desta doença será, numa fase inicial de 2918 euros, aumentando para 4101 euros no segundo ano. Estes valores referem-se a visitas hospitalares, visitas médicas, visitas à terapia da fala, visitas à fisioterapia, visitas de enfermeiros e medicamentos, e os custos não médicos referem-se a custos associados ao serviço de cuidado diurno, serviços de alarme, ajuda domiciliária e vigilância do paciente de dia e de noite [28].

Analisando o impacto mundial que a doença de Alzheimer tem economicamente, são necessários esforços contínuos para desenvolver novas intervenções com capacidade preventiva de modo a reduzir o impacto económico, o impacto na saúde pública e os impactos sociais.

A abordagem nutricional incluindo dietas saudáveis e/ou componentes individuais insere-se nesta política de prevenção e atraso da doença.

3. Eixo intestino-cérebro e o impacto na doença de Alzheimer

A informação genética coletiva de bactérias, vírus e fungos contidos na microbiota, que habitam dentro e sobre o corpo humano é definida por microbioma [29].

O microbioma intestinal tem vindo a receber muita atenção nos últimos anos devido à evidência crescente de que as atividades metabólicas no microbioma intestinal estão interligadas com a saúde e doenças humanas [30].

Os micróbios e os seus produtos metabólicos ajudam a manter o equilíbrio dos nutrientes, a regular o metabolismo celular e o sistema imunitário, a construir barreiras mucosas e a destruir agentes patogénicos. O eixo intestino-cérebro é responsável por regular a comunicação bidirecional entre o sistema nervoso central (SNC) e o sistema nervoso entérico (SNE), havendo estudos que alegam que o eixo intestino-cérebro tem a capacidade de regular o humor e a função cognitiva [31].

Existe evidência, desde 1989, de que foram detetadas proteínas A β no intestino e que a proteína precursora da proteína A β também se encontra nos neurónios do SNE, tornando admissível a teoria de que a fisiopatologia da DA possivelmente envolve o SNE. Adicionalmente, estudos em animais mostraram que a inflamação intestinal devido à perturbação da microbiota intestinal contribuiu para a patogénese e progressão da DA [32].

O microbioma intestinal, ao longo da vida sofre alterações e é afetado por vários fatores tais como, dieta, geografia, exercício e uso de antibióticos e de outros tipos de medicamentos. A dieta tem um papel fundamental na composição e diversidade do microbioma intestinal, sendo este afetado, se houver uma mudança repentina da dieta. Os tipos de dieta existentes em diferentes países têm impactos diferentes no microbioma intestinal, sendo que a dieta mediterrânica está associada a uma série de efeitos benéficos para a saúde, apresentado um perfil intestinal diferente de um perfil associado a uma dieta ocidental, caracterizada por ser uma dieta não saudável e pouco diversa [33].

Foram também encontradas diferenças nos perfis intestinais em pacientes com a DA, com a doença de Parkinson, pacientes com depressão, autismo e com stress pós-traumático. Esta informação ajuda também a validar a teoria de que a fisiopatologia da DA envolve o SNE [34].

4. Diagnóstico

Tendo em conta que as alterações no tecido cerebral começam a acontecer muito antes de haver sintomas de declínio cognitivo [23], é fundamental que se faça um diagnóstico preciso na fase inicial da doença de modo a se ter um prognóstico e se poder planear os cuidados avançados com antecedência. Apesar de não existir um tratamento aprovado para a fase inicial da DA, um diagnóstico tardio adia todo o processo de lidar com a doença, nomeadamente o planeamento de cuidados avançados e intervenções não farmacológicas tais como, estimulação cognitiva, tratamento psicológico e mudanças do estilo de vida que podem ser cruciais para a preservação do desempenho cognitivo e para melhorar a qualidade de vida do doente [35].

Alterações no estilo de vida e apoio social podem diminuir a sobrecarga dos cuidados, atrasar a institucionalização e reduzir os custos associados à doença. O diagnóstico preciso e precoce da DA para pessoas dos Estados Unidos nascidas em 2018 e antes pode resultar na poupança de aproximadamente sete triliões de dólares em cuidados médicos e de assistência [35].

O diagnóstico definitivo da DA requer o exame microscópico de várias regiões do cérebro, utilizando métodos de coloração que podem detetar alterações neuropatológicas causadas pela DA, com diagnóstico baseado na morfologia e densidade das lesões e das suas distribuições topográficas [36].

5. Tratamentos farmacológicos disponíveis para a Doença de Alzheimer

Apesar de a DA ser uma doença que gera uma grande preocupação devido ao seu crescimento na população, o seu mecanismo de desenvolvimento exato ainda é desconhecido e existem várias hipóteses para explicar a sua patogénese, como já foi referido anteriormente. Por haver várias teorias para a patogénese da DA, existem também vários tratamentos farmacológicos com diferentes mecanismos de ação [37].

Os tratamentos mais utilizados para a DA são fármacos inibidores da colinesterase, como o donepezil, a rivastigmina e a galantamina, fármacos antagonistas dos recetores N-metil-D-aspartato (NMDA) como a memantina e fármacos que atuam na placa β -amilóide [38].

Foi publicado em 2021 um estudo que analisa a eficácia dos inibidores da colinesterase e da memantina, para provar que estes tratamentos também têm efeitos benéficos na vida real quando em contacto com diversos fatores de risco. O estudo provou que realmente estes tratamentos podem ser eficazes, no entanto, foi observado que os pacientes que se encontram numa fase mais severa da doença beneficiam mais deste tipo de tratamento do que os que estão numa fase inicial da doença, e que a melhoria ou estabilização dos sintomas dura normalmente entre 2 a 5 meses, acabando este período observa-se uma taxa de declínio igual à observada antes do tratamento [39].

Para além de este tipo de tratamento não ser eficaz a longo prazo, existem diversos efeitos secundários associados ao uso dos inibidores da colinesterase e da memantina, que afetam principalmente o trato gastrointestinal e o sistema nervoso que acabam por fazer com que os pacientes não queiram aderir a estes tratamentos. Os efeitos secundários observados podem ser convulsões, náuseas, vômito, cólicas, fadiga muscular, diarreia, perda de apetite, tonturas, dores de cabeça entre outros que são mais raros como, alucinações e comportamento agressivo [40].

Diversos estudos sugerem que os fatores nutricionais, incluindo micro e macronutrientes, alimentos, bebidas e padrões alimentares, podem modificar o risco e atrasar a ocorrência de demência, abordando-se este aspeto no capítulo seguinte.

6. Papel da nutrição e alimentação na prevenção / atraso da Doença de Alzheimer

Vários estudos evidenciam uma ligação entre o declínio cognitivo e uma dieta rica em gorduras saturadas e gorduras trans, em proteína animal, açúcares refinados e pobre em produtos de origem vegetal. Em oposição, uma dieta rica em vegetais, frutos, cereais, frutos secos, peixe e um consumo baixo de carnes, doces e produtos processados está associada a um melhor desempenho cognitivo, menor risco de demência e ainda uma melhoria no equilíbrio da flora intestinal que tem vindo a ser associada à formação de Beta-amilóides [25].

6.1. A Dieta Mediterrânica e a Dieta MIND

Tendo em conta o tipo de dieta mais favorável a um bom desempenho cognitivo, existem três tipos de dietas que se destacam na prevenção da DA, a Dieta Mediterrânica

(MeDi), a dieta que consiste em Abordagens Dietéticas para travar a Hipertensão (DASH) e a Intervenção Dietética Mediterrânea-DASH para o atraso Neurodegenerativo (MIND) [41].

A dieta mediterrânea caracteriza-se por um consumo elevado de legumes e vegetais, frutos, cereais, azeite, baixo consumo de gorduras saturadas, consumo elevado de peixe, consumo reduzido de carnes e laticínios e consumo regular moderado de vinho às refeições. A dieta DASH consiste num consumo de frutas, vegetais, laticínios magros, cereais, peixe, carne de aves, e frutos secos e um consumo reduzido de carnes vermelhas e doces. A dieta MIND incentiva o consumo de muitos dos alimentos recomendados na MeDi e DASH, mas com algumas particularidades. Quanto aos vegetais, são divididos em 2 grupos: folhas verdes e legumes, sendo importante consumir diariamente uma porção de cada grupo. Já em relação às frutas, considera apenas o consumo de bagas, que são os frutos vermelhos como morangos, amoras, framboesas, mirtilos, entre outros, pois apenas esse grupo traria benefícios para a saúde cerebral, devido às duas propriedades antioxidantes. Bem como a dieta MeDi e a DASH, a dieta MIND também compartilha a recomendação de limitar carnes vermelhas, queijos, gorduras saturadas, grãos refinados, açúcares adicionados e frituras. O principal diferencial desta estratégia é o foco nas recomendações diárias e semanais para alimentos e grupos de alimentos [41].

Todas estas dietas mostraram ter benefícios no desempenho cognitivo e na redução do risco de desenvolver a doença de Alzheimer. Num estudo de coorte envolvendo cerca de 16000 candidatos, pessoas de meia-idade (30 – 70 anos) sem declínio cognitivo, pessoas com demência e pessoas com a DA que foram acompanhadas durante cerca de 20 anos, a adesão à MeDi revelou estar associada a uma redução de 20% de risco de desenvolver a DA [42].

Na Tabela I apresentam-se trabalhos científicos que evidenciam o papel da dieta na função cognitiva (MeDi e dieta MIND).

Tabela I - Trabalhos científicos que evidenciam a associação da dieta com a função cognitiva. [43-45]

Autores e ano	Objetivo	Resultados	Motor de busca e palavras-chave
DE CROM, Tosca O. E, <i>et al.</i> 2022	Avaliar a associação entre a dieta MIND e demência ao longo de períodos cumulativos	Uma melhor adesão à dieta MIND está associada a uma diminuição do risco de desenvolver demência nos primeiros anos de acompanhamento, no entanto, esta associação pode ser explicada pela causalidade reversa e pelo fator de confusão, pelo que são necessários mais estudos.	Web of science; Palavras chave: MIND diet; Alzheimer's disease
GALBETE, C. <i>et al.</i> 2015	Avaliar a associação entre a adesão à dieta mediterrânica e a função cognitiva em 823 participantes de 62 ± 6 anos de um estudo de coorte espanhol.	Foi observado um declínio cognitivo maior nos participantes que tinham uma adesão baixa a moderada à dieta mediterrânica em comparação com os que tinham uma maior adesão à dieta MeDi.	Web of science; Palavras-chave: Mediterranean diet; cognitive function
HOSCHEIDT, S. <i>et al.</i> 2022	Avaliar o efeito da Dieta Ocidental e da Dieta Mediterrânica nos biomarcadores da doença de Alzheimer, no fluxo sanguíneo e função cerebral e na cognição num estudo de 4 semanas.	Os resultados deste estudo mostram que as dietas podem ser moduladoras da saúde cerebrovascular. Foi observado para os adultos de com cognição normal que uma Dieta Ocidental pode aumentar o risco de desenvolver a DA e que a MeDi promove a saúde cerebrovascular. No entanto, para adultos com um défice moderado de cognição foi observado que uma Dieta Ocidental pode ser benéfico.	Web of Science; Palavras-chave: Diet; Alzheimer's disease

7. Formulações nutricionais para a doença de Alzheimer

Para além dos fármacos anteriormente referidos neste trabalho, existem formulações nutricionais que nos Estado Unidos da América consideram-se *Medical Foods* (alimentos medicinais), especialmente designados para atrasar a progressão da DA. Um *Medical Food* é definido como uma categoria especial de produtos destinados para a gestão dietética específica de uma doença ou condição, que tem requisitos nutricionais distintos, estabelecidos por uma avaliação médica baseada em princípios científicos reconhecidos [46].

Um alimento medicinal, é um produto regulado e para poder ser tomado, tem de ter a supervisão de um profissional, tendo este que informar o paciente e a família do paciente de como tomar o produto, os resultados que o produto pode ter e também os seus potenciais efeitos adversos. Existem 3 alimentos medicinais disponíveis nos Estados Unidos e na Europa que alegadamente têm efeitos benéficos em pacientes com a DA, nomeadamente o Souvenaid[®], o Axona[®] e o CerefolinNAC[®] [46].

A Tabela 2 representa esquematicamente a composição destes 3 alimentos medicinais, o modo de ação de cada um, os resultados de ensaios clínicos e as limitações dos ensaios [47].

Tabela 2 - Composição, modo de ação, resultados de ensaios e limitações dos ensaios das formulações nutricionais para a doença de Alzheimer

Alimento medicinal	Composição	Modo de ação proposto	Resultados de ensaios clínicos	Limitações dos ensaios clínicos
Axona®	Triglicéridos do ácido caprílico	O metabolismo do ácido caprílico em corpos cetónicos fornece uma fonte de energia alternativa para neurónios com utilização de glucose comprometida.	Aumento significativo nos corpos cetónicos 2h após a administração. Diferença significativa entre grupos placebo e grupos administrados com Axona® nos dias 45 e 90 após a administração na escala de avaliação da DA – subescala cognitiva (ADAS-Cog) (Grupo da Axona® teve melhorias e grupo de controlo piorou). Benefícios nos participantes sem o gene ApoE4.	Tamanho da amostra moderado; Estudo feito apenas na fase inicial a moderada da doença.
Souvenaid®	Ácidos gordos ómega-3, vitaminas B6, B12, C e E, colina, ácido fólico, selénio, monofosfato de uridina e fosfolípidos	Atua sobre o défice na composição da membrana neuronal e melhora a função sináptica.	Melhoria significativa no atraso verbal e resultados inalterados depois de 12 dias de administração. Melhoria significativa na memória, avaliada com um teste de bateria neuropsicológica.	Tamanho da amostra moderado; Duração curta; Sem diagnóstico da DA de acordo com critérios estabelecidos; Relevância clínica e ecológica questionável dos resultados neuropsicológicos.
CerefonlinNAC®	L-metilfolato; metilcobalamina e N-acetilcisteína	Atua nos desequilíbrios metabólicos e no stress oxidativo neuronal em pessoas com hiper-homocisteinemia.	Melhoria significativa nas taxas de atrofia no hipocampo e atrofia cortical em participantes com a DA e hiper-homocisteinemia.	Tamanho da amostra pequeno; Estudos não randomizados, sem condições adequadas de grupos de controlo; Sem extrapolação possível para indivíduos com níveis normais de homocisteína.

Como referido anteriormente, a DA tem um grande impacto económico global, sendo a terapia farmacológica e até os alimentos medicinais algo dispendiosos, é importante surgirem novas intervenções que juntem a acessibilidade aos efeitos benéficos para a prevenção da doença. É aqui que entra a abordagem nutricional, mais concretamente o que se propõe neste trabalho, um suplemento com potencial benefício na prevenção da doença.

O Decreto-Lei n.º 118/2015 define suplementos alimentares como “géneros alimentícios que se destinam a complementar e ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinadas, comercializadas em forma doseada, tais como cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos ou pós que se destinam a ser tomados em unidades medidas de quantidade reduzida” [48].

Os suplementos alimentares destinam-se a complementar um regime alimentar que possa ter défice de determinados nutrientes, não devendo nunca substituir um regime alimentar variado, como disposto no Decreto-lei n.º 118/2015. Para um suplemento ser colocado no mercado deve-se primeiramente notificar a autoridade competente, neste caso, em Portugal, a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e não necessita de apresentar ensaios de segurança [48, 49].

Segue-se a composição do suplemento proposto neste trabalho e os potenciais benefícios de cada ingrediente na saúde em geral e na DA, sendo este composto por películas de uva, feijão branco, pinhão e albumina de ovo.

8. Alimentos com potenciais benefícios nas doenças neurodegenerativas utilizados na formulação

8.1. Película de uva

A película, parte externa do bago da uva é constituída maioritariamente por polifenóis (flavonas e/ou antocianinas). Os polifenóis são compostos que se encontram presentes naturalmente em frutas e vegetais e podem ser divididos em dois grupos, os flavonóides e outro tipo de polifenóis que não são flavonóides [50].

A Figura 2 representa resumidamente as diferentes classes de polifenóis [50].

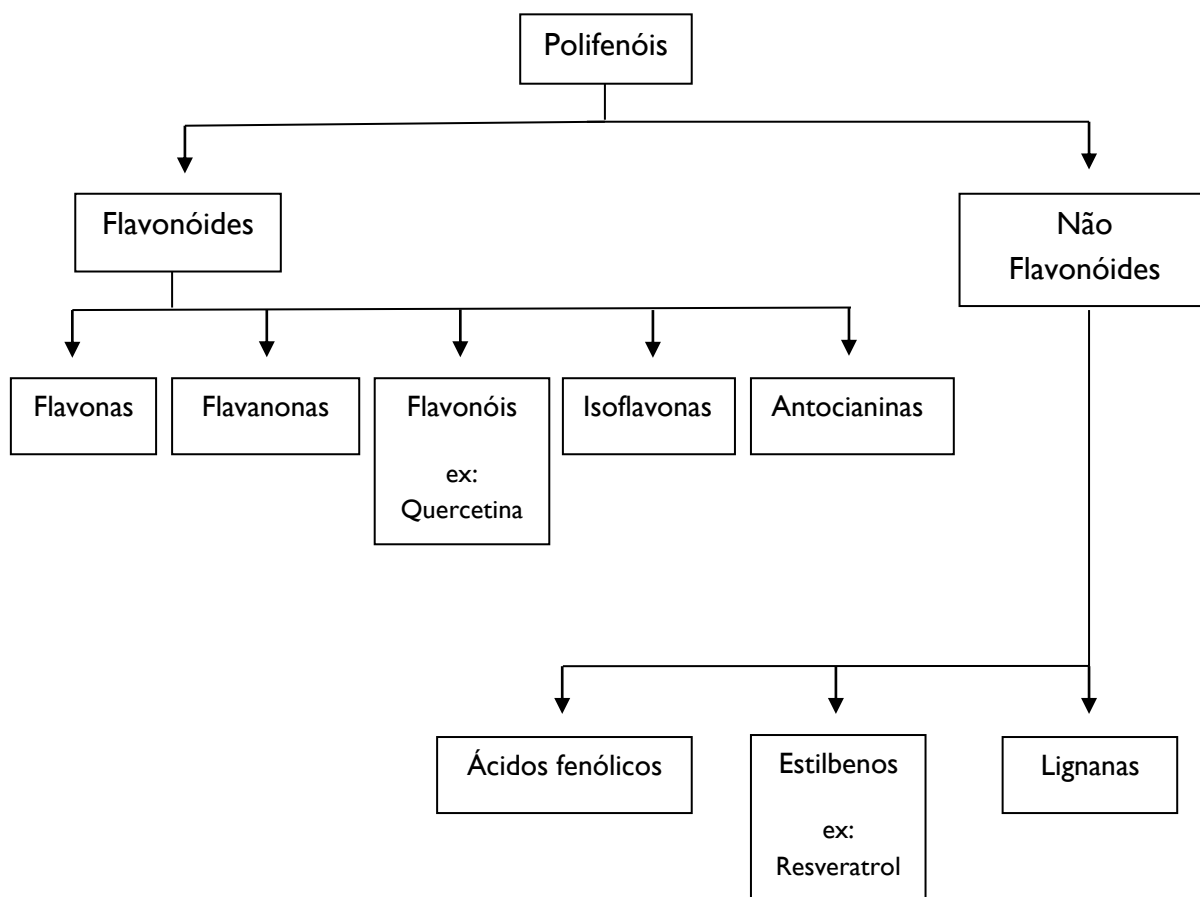


Figura 2 - Diferentes classes de polifenóis

Os flavonóides têm vindo a provar ter efeito neuroprotetor, capacidade de regeneração neuronal e capacidade de prevenir neurodegeneração relacionada com a idade. A uva que é uma das frutas mais cultivadas no mundo é uma das fontes principais de polifenóis [51].

As antocianinas, como representado na Figura 2 representam uma classe de flavonóides, estando principalmente presentes na pele da uva em concentrações que variam entre 200 e 500 mg/kg e existem vários estudos que comprovam que as antocianinas derivadas da alimentação podem ter benefícios contra várias doenças como o cancro, diabetes, obesidade e têm capacidade antioxidante e anti-inflamatória [51].

Uma vez que alguns flavonóides conseguem passar a barreira hematoencefálica, estes acabam por ter efeitos benéficos no sistema nervoso central devido à sua capacidade neuroprotetora [46]. A Figura 3 apresenta esquematicamente o papel que os compostos bioativos fenólicos podem ter no início e progressão da doença de Alzheimer [51].

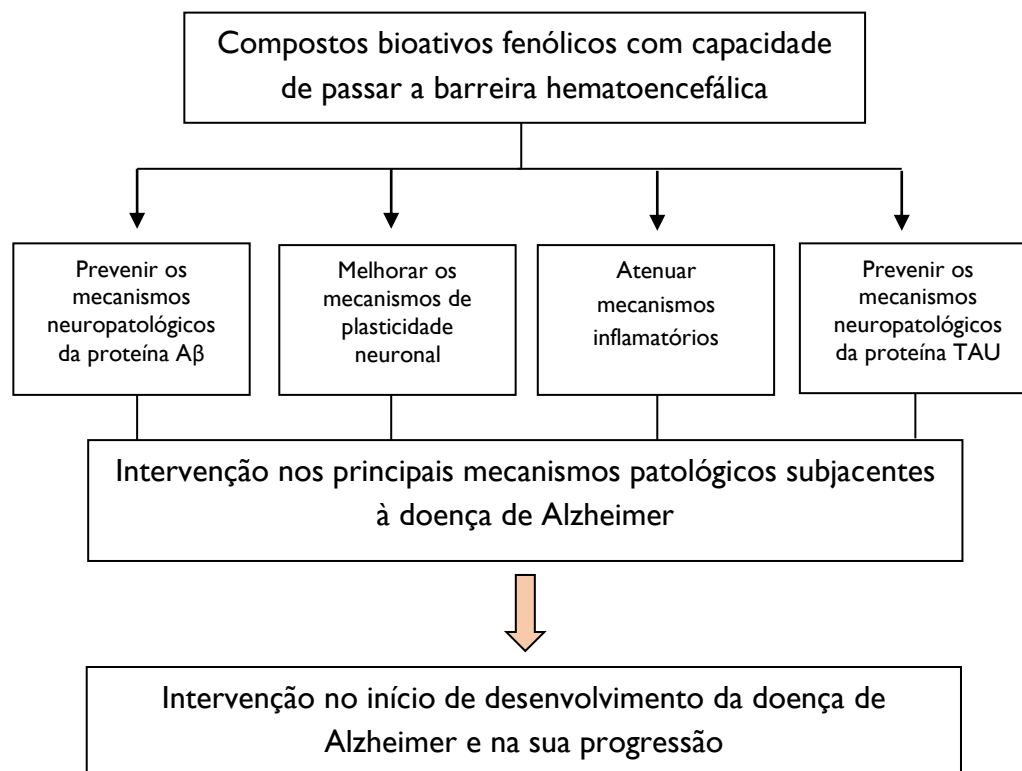


Figura 3 - O impacto de compostos fenólicos bioativos capazes de passar a barreira hematoencefálica, na doença de Alzheimer. (Adaptado de Pasinetti et al., 2014 [53])

A quercetina é um flavonóide presente nas uvas e vários estudos sugerem que este flavonóide pode ter um efeito anti-inflamatório, capacidade de melhorar a imunidade e que a ingestão oral de quercetina pode ser uma estratégia preventiva promissora para a DA. No entanto, a reduzida biodisponibilidade deste flavonóide é uma limitação, sendo necessário melhorar a sua biodisponibilidade para se poder definir uma dose adequada para que a sua administração alcance os objetivos pretendidos [52].

O resveratrol é um dos outros polifenóis encontrados na pele da uva e existem vários estudos que indicam que este composto é benéfico para a DA, já que apresenta capacidade para atrasar alguns problemas de saúde relacionados com a idade e pode ter influência positiva no atraso da deterioração cognitiva [53].

Estudos sobre o resveratrol sugerem que este preveniu o declínio cognitivo em ratos e que melhorou a microvasculatura do hipocampo. Existem também estudos em curso para explorar os benefícios do resveratrol no tratamento de indivíduos com demência particularmente os que estão na fase moderada da doença, que acaba por conduzir à DA [51, 53].

Alguns estudos epidemiológicos têm vindo a demonstrar que o consumo moderado de vinho, bebida típica da dieta mediterrânica, pode atenuar os sintomas de declínio cognitivo da DA, isto porque os compostos fenólicos presentes em produtos derivados de uvas como sumo de uva e vinho tinto têm capacidade antioxidante. No entanto, é de destacar que apesar de haver estudos que demonstram que o consumo moderado de vinho pode ter benefícios para a saúde, a quantidade de etanol que pode apresentar benefícios para a saúde é relativamente reduzida [54].

A Tabela 3 apresenta trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos da uva na doença de Alzheimer.

Tabela 3 - Trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos da uva na doença de Alzheimer [51, 55-57]

Autores e ano	Objetivo	Resultados	Motor de busca e palavras-chave
SASAKI, Kazunori, <i>et al.</i> 2021	Avaliação do efeito do extrato de pele de uva (GSE) in vitro em células neurotóxicas SH-SY5Y e exame imunohistoquímico em ratos SAMP8	O tratamento com GSE diminuiu significativamente a quantidade de neuroesferas no entanto aumentou o seu tamanho, sugerindo uma renovação de células estaminais reduzida contudo, mostrou um aumento na sua proliferação. O tratamento com GSE nos ratos mostrou também melhorar a aprendizagem e memória.	Web of Science; Palavras-chave: grape skin; alzheimer's disease
PORQUET, David, <i>et al.</i> 2013	Esclarecer o papel do resveratrol via alimentação em ratos SAMP8	A administração de resveratrol via alimentação mostrou ter efeitos positivos no aumento da esperança de vida, na memória e em marcadores neurodegenerativos nos ratos SAMP8.	Web of Science; Palavras chave: resveratrol; alzheimer's disease
SARROCA, Sara, <i>et al.</i> 2020	Investigar a contribuição de uma dieta elevada em gorduras no desenvolvimento e progressão da DA e o efeito neuroprotetor do resveratrol em ratos	O estudo mostrou que uma dieta com calorias excessivas fornecidas por gorduras saturadas desencadeia vários aspetos da neuropatologia da DA nos ratos e pode até agravar. Os resultados demonstram ainda que o resveratrol tem a capacidade de neutralizar efeitos negativos de uma dieta elevada em gorduras saturadas, auxiliando na recuperação da memória e na redução da ansiedade.	Web of Science; Palavras-chave: resveratrol; alzheimer's disease
PÉREZ-CORREDOR, Paula, <i>et al.</i> 2019	Avaliação da administração oral crónica de quercetina (100mg/kg) em marcadores de neurodegeneração e défice cognitivo e emocional num modelo de rato triplo transgénico da DA, utilizando análises histológicas e comportamentais.	Este estudo concluiu que a quercetina pode impedir a agregação amilóide, sugerindo que a sua administração numa fase inicial da DA pode ter resultados promissores, no entanto mais estudos são necessários pois a biodisponibilidade da quercetina é muito reduzida.	Web of Science; Palavras-chave: Alzheimer's disease, quercetin

8.2. Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

Os feijões têm um papel fundamental na alimentação e fornecem vários benefícios para a saúde, são importantes fontes de carboidratos, proteína, fibra, vitaminas e minerais, fitoquímicos e têm um índice baixo de gordura saturada e têm ainda a vantagem de serem muito acessíveis a nível económico [58].

A proteína proveniente dos feijões tem um papel importante na nutrição humana ao complementar os cereais. O consumo de feijões combinados com cereais é uma das melhores estratégias no combate à má nutrição devido à falta/desadequação de proteína. Quanto às vitaminas e minerais os feijões são considerados uma melhor fonte de micronutrientes do que os cereais e têm uma quantidade elevada de minerais comparando com outras leguminosas, sendo uma fonte importante de zinco, ferro, cobre, fósforo e alumínio [59].

A Tabela 4 apresenta a composição nutricional do feijão branco cru [61].

Tabela 4 - Composição nutricional do feijão branco (Adaptado do INSA [61])

	Feijão branco cru (100g)
Energia (Kcal/KJ)	318/1340
Lípidos (g)	1,4
Ácidos gordos saturados (g)	0,3
Ácidos gordos monoinsaturados (g)	0,4
Ácidos gordos polinsaturados (g)	0,4
Ácidos gordos trans (g)	0
Hidratos de carbono (g)	43,9
Fibra (g)	22,9
Proteína (g)	21
Colesterol (mg)	0
Vitamina A (µg)	0
Alfa-tocoferol (mg)	0,2
Tiamina (mg)	0,35
Riboflavina (mg)	0,17
Niacina (mg)	1,2
Vitamina B6 (mg)	0,35
Vitamina B12 (µg)	0
Vitamina C (mg)	0
Folatos (µg)	300
Sódio (mg)	43
Potássio (mg)	1160
Cálcio (mg)	180
Fósforo (mg)	310
Magnésio (mg)	180
Ferro (mg)	6,1
Zinco (mg)	2,8

O feijão comum, o *Phaseolus vulgaris* é ainda rico em folato, podendo ter uma quantidade de folato de 113µg a 222µg por 100g de sementes. O folato provém principalmente de fontes vegetais e é essencial para o metabolismo humano. A deficiência desta vitamina tem vindo a ser associada a várias doenças, sendo uma delas a doença de Alzheimer [60].

O consumo regular de feijão seco que contem fibras solúveis e polifenóis que atuam como antioxidantes teve um efeito redutor do índice glicémico em humanos e outros estudos sugerem que dietas que contêm feijões podem reduzir o colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) e aumentar o colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade), e podem também diminuir o risco de desenvolver doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes [58].

Alguns estudos clínicos demonstram que o consumo de 3 ou mais porções de feijão por semana podem ajudar a diminuir o risco de desenvolver diabetes até 35% comparando com quem não consome feijões. Outro estudo clínico com participantes masculinos com hipercolesterolemia, demonstrou uma diminuição do colesterol sérico em 19% e do colesterol LDL em 24% depois de seguirem uma dieta com suplementação de feijão [58].

Os compostos fenólicos e outros compostos bioativos presentes no feijão estão associados a atividade anti-mutagénica e anti-carcinogénica e os fitoquímicos dos feijões podem ter um grande potencial para agir como ingrediente nutracêutico devido à suas atividade antioxidante [59].

A Tabela 5 apresenta trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos de diferentes espécies de feijão na doença de Alzheimer.

Tabela 5 - Trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos de diferentes espécies de feijão na doença de Alzheimer [62, 63]

Autores e ano	Objetivo	Resultados	Motor de busca e palavras-chave
MIYAZAKI, Honami. <i>et al.</i> 2019	Investigar a capacidade do extrato de feijão azuki de diminuir a agregação de A β <i>in vitro</i> e de aliviar perturbações da função motora, perturbações da memória e uma esperança de vida anormal <i>in vivo</i> em drosófilas.	O consumo do extrato de feijão azuki melhorou a deficiência de memória em drosófilas com elevada agregação de A β . Este estudo demonstrou no geral que o extrato de feijão azuki pode atrasar o desenvolvimento da DA, no entanto, tem de se investigar se os compostos bioativos do feijão conseguem passar através da barreira hematoencefálica.	Web of Science; Palavras-chave: Beans; Alzheimer's disease
LUCHSINGER, José A. <i>et al.</i> 2007	Relacionar o consumo de folato, vitamina B6 e vitamina B12 com a doença de Alzheimer	Um maior consumo de folato está relacionado com um menor risco de desenvolver a DA, mas o consumo das vitaminas B6 e B12 não está relacionado com a DA. Neste estudo conclui-se que a relação entre o folato e a DA resulta de um consumo cumulativo de folato, proveniente de fontes alimentares e de suplementos.	Web of Science; Palavras-chave: Folate; Alzheimer's disease

8.3. Pinhão

A composição nutricional dos frutos secos geralmente é rica em lípidos, proteínas, vitaminas e minerais, compostos bioativos como compostos fenólicos, tocoferóis e fitoesteróis e um elevado índice de ácidos gordos, tanto de ácidos gordos monoinsaturados e como de polinsaturados [67].

O consumo de frutos secos combinados com uma dieta saudável e equilibrada tem vindo a ser associado à prevenção de algumas doenças crónicas como, diabetes do tipo II, cancro, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas [67].

Incluir frutos secos numa dieta equilibrada contribui também para um consumo de vários minerais como, cálcio, potássio, magnésio e zinco [67]. O pinhão é um dos frutos secos com maior conteúdo de ácido linoleico e fitoesteróis [68].

A Tabela 6 apresenta a composição nutricional do miolo do pinhão [61].

Tabela 6 - Composição nutricional do miolo de pinhão (Adaptado do INSA [61])

	Miolo do pinhão (100g)
Energia (Kcal/KJ)	622/2580
Ácidos gordos saturados (g)	3,5
Ácidos gordos monoinsaturados (g)	15
Ácidos gordos polinsaturados (g)	31
Ácidos gordos trans (g)	0
Hidratos de carbono (g)	5
Fibra (g)	1,9
Proteína (g)	33,2
Colesterol (mg)	0
Alfa-tocoferol (mg)	10
Tiamina (mg)	0,39
Riboflavina (mg)	0,22
Niacina (mg)	2,7
Vitamina B6 (mg)	0,11
Vitamina B12 (µg)	0
Vitamina C (mg)	0
Folatos (µg)	57
Sódio (mg)	1
Potássio (mg)	780
Cálcio (mg)	54
Fósforo (mg)	350
Magnésio (mg)	270
Ferro (mg)	4,7
Zinco (mg)	6,5

Vários estudos indicam que os ácidos gordos insaturados obtidos através da alimentação podem ter efeitos benéficos contra a inflamação, na resposta imunitária, no apetite e peso corporal, na regulação dos níveis de glucose no sangue, na regulação da pressão arterial e em mecanismos protetores antioxidantes [65].

Dado que os estudos que existem sobre a relação entre o consumo de frutos secos e a saúde indicam que estes têm uma correlação direta, nomeadamente na redução de risco de doença cardiovascular e na redução do risco de desenvolver diabetes, pode-se assumir que o consumo de frutos secos está também relacionado com a melhoria da função cognitiva visto que esta tem tendência a deteriorar quando associada a estas duas doenças [66].

A Tabela 7 apresenta trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos do pinhão na doença de Alzheimer.

Tabela 7 - Trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos do pinhão na doença de Alzheimer [67, 68]

Autores e ano	Objetivo	Resultados	Motor de busca e palavras-chave
LIU, Yanmeng. <i>et al.</i> 2022	Realizar uma análise metabólica utilizando cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada com espectrometria de massa em tandem de tempo de voo quadrupolo em amostras de plasma, hipocampo e córtex num modelo de rato com DA com o objetivo de identificar biomarcadores. Os biomarcadores identificados também serviram para a avaliação de medicamentos para a DA.	O tratamento que combina donepezil e pinhões mostrou ter uma certa capacidade de neuroproteção e capacidade de inibir o aumento da acetilcolinesterase. O resultado do ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) confirmou a capacidade de inibição da colinesterase do medicamento donepezil e mostrou que os pinhões têm um efeito similar ao do medicamento, sugerindo que os pinhões podem formar uma nova terapia para a DA.	Web of Science; Palavras-chave: pine nuts; alzheimer's disease
ZHANG, Jianmei. <i>et al.</i> 2018	O objetivo deste estudo foi avaliar se a administração crônica de D-galactose pode causar lesões neuronais e danos oxidativos e investigar o efeito neuroprotetor e antioxidante dos componentes ativos do pinhão coreano.	O composto extraído do pinhão coreano (UPNO-I) provou ter efeitos de neuroproteção, antioxidação e regulação metabólica, tendo potencial para ser um novo tratamento para doenças neurodegenerativas como a DA.	Web of Science; Palavras-chave: pine nuts; alzheimer's disease

8.4. Ovoalbumina

Um dos mecanismos fisiopatológicos da DA envolve a acetilcolina, que é um neurotransmissor importante para a comunicação entre as células nervosas do cérebro. O nível de acetilcolina no cérebro de pacientes com DA é reduzido e existem enzimas designadas de colinesterases que destroem este neurotransmissor [69].

As claras de ovo são constituídas por água (88%-90%), proteínas (10%-12%), carboidratos, minerais e lípidos. A proteína que existe maioritariamente na clara de ovo é a ovoalbumina, esta proteína pode ter vários efeitos benéficos para a saúde como, regular o açúcar no sangue, regular a tensão arterial, agir como anticoagulante e prevenir o cancro [69].

Alguns estudos anteriores revelaram que um peptídeo derivado da ovoalbumina pode inibir a atividade das colinesterases de forma eficaz fazendo com que os níveis de acetilcolina aumentem, tornando este peptídeo promissor na prevenção da DA [69].

A tabela 8 apresenta trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos da albumina de ovo na doença de Alzheimer.

Tabela 8 - Trabalhos científicos que evidenciam os efeitos dos compostos bioativos da albumina de ovo na doença de Alzheimer [70, 71]

Autores e ano	Objetivo	Resultados	Motor de busca e palavras-chave
YU, Zhipeng. <i>et al.</i> 2011	Os inibidores da ECA são uma terapia para a hipertensão, insuficiência cardíaca, enfarte do miocárdio e nefropatia diabética. Investigar a estrutura primária e estrutura secundária do novo peptídeo inibidor da enzima conversora da angiotensina (ECA) da clara de ovo tal como os seus compostos bioativos.	Este estudo mostrou que a estrutura secundária mostrou ter um desempenho importante na inibição da atividade da ECA.	Web of Science: egg whites; health benefits
YU, Zhipeng. <i>et al.</i> 2020	A inibição da Beta-secretase I (BACE1) é uma abordagem terapêutica promissora para a DA, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade inibitória da BACE1 a partir de peptídeos isolados da albumina de ovo.	Um dos peptídeos da albumina de ovo inibiu significativamente a BACE1.	Web of Science; Palavras-chave: egg albumin; alzheimer's disease

9. Materiais e Métodos

Apresenta-se de seguida os materiais e métodos deste trabalho, englobando todo o processo de criação das 2 formulações e a análise da composição centesimal das mesmas, tendo sido determinada a humidade, o teor de minerais totais, a fibra, a proteína bruta e a matéria gorda.

9.1. Reagentes

Neste capítulo encontram-se listados todos os produtos químicos utilizados em todo o trabalho:

- Éter de petróleo;
- Pastilha de selénio;
- Ácido sulfúrico;
- Vermelho de metilo;
- Hidróxido de sódio;
- Hipossulfito de sódio;
- Água destilada.

9.2. Equipamentos e materiais

No decorrer das atividades laboratoriais nomeadamente na formulação das farinhas e na análise centesimal das mesmas, foram utilizados vários materiais e equipamentos. Dos materiais de laboratório destacam-se os seguintes:

- Copos de precipitação de vidro;
- Varetas;
- Cápsulas de fundo plano;
- Cartuchos de papel de filtro;
- Algodão;
- Parafilme;
- Cadinhos;
- Tubos de mineralização
- Balões de Erlenmeyer;
- Aparelho de extração Soxhlet;
- Balão de fundo redondo;
- Exsicador com gel de sílica.

Os equipamentos utilizados encontram-se descritos na Tabela 9.

Tabela 9 - equipamentos utilizados no trabalho laboratorial

Equipamento	Marca	Modelo
Moinho de martelos	RETSCH	WRB 80 c/2 O 88
Moinho de café	BOSCH	Tsm6A017C
Instrumento de dispersão	UltraTurrax	Ika, T25 Digital
Estufa	Raypa	-
Balança	Mettler Toledo	PB303-S
Manta de aquecimento	Witeg	WHM multi place
Evaporador rotativo	heidolph	Hei-VAP Core
Banho de areia	FALC	S130
Mufra	Gallenkamp	-
Aparelho de destilação	VELP SCIENTIFICA	UDK 127
Digestor Kjeldahl	Raypa	MBC-6/N
Extrator de fibra	Raypa	F-6 P
Congelador	avantor	GT 1421
Liofilizador	CHRIST	Alpha 1-4 LSC basic

9.3. Formulação de um produto com potencial utilização na doença neurodegenerativa

Realizaram-se 2 formulações diferentes tendo como base os seguintes ingredientes:

- Feijão branco seco produzido na Bio-Região de São Pedro do Sul;
- Uvas touriga nacional;
- Pinhão;
- Albumina de ovo.

As duas formulações baseiam-se nas seguintes composições:

- Formulação 1: $100,0 \pm 0,005\text{g}$ de farinha de feijão branco + $5,0 \pm 0,7\text{g}$ de películas uva + $5,00\text{g}$ de pinhão moído + $2,5\text{g}$ de albumina de ovo;
- Formulação 2: $100,0 \pm 0,005\text{g}$ de farinha de feijão branco + $10,0 \pm 0,3\text{g}$ de películas de uva + $10,00\text{g}$ de pinhão moído + $2,5\text{g}$ de albumina de ovo.

9.4. Preparação das formulações 1 e 2

Para as formulações 1 e 2 utilizaram-se os mesmo materiais e procedeu-se às mesmas etapas, sendo apenas diferentes nas concentrações. Seguem as etapas de preparação das formulações.

9.5. Preparação do feijão

Primeiramente moeu-se o feijão branco seco num moinho de martelos (RETSCH typ. WRB 80 c/2 088), com um crivo de 1mm de poro, obtendo-se uma farinha (Figura 4). Quando peneirada a farinha ficou retida maioritariamente num crivo de $75\mu\text{m}$.

Na Figura 4 pode-se observar os copos com a farinha de feijão branco já dividida, com aproximadamente 50g em cada copo para as duas formulações.



Figura 4 - Feijão branco seco moído

9.6. Preparação do pinhão

De seguida moeu-se o pinhão num moinho de café (BOSCH Tsm6017C) durante 3 a 5 minutos até obtenção de uma farinha não oleosa.

A Figura 5 apresenta os copos com a farinha de pinhão já dividida, com 5g e 10g em cada copo respectivamente, para as duas formulações.



Figura 5 - Miolo de pinhão moído

9.7. Preparação das películas de uva

Para as películas de uva, espremeram-se as uvas para se retirar o sumo e retiraram-se as grainhas para se obter apenas as películas das uvas. As películas das uvas foram moídas num instrumento de dispersão de alto desempenho (UltraTurrax Ika, T25 Digital) a 15000 rpm durante 5 minutos.

A Figura 6 apresenta a separação feita para se obter as películas, estando o sumo espremido das uvas no copo maior à esquerda, as grainhas no frasco à direita e as películas no copo do centro.



Figura 6 - Películas de uvas separadas do sumo e das grainhas

9.8. Preparação da albumina de ovo

A albumina de ovo foi adquirida no supermercado já pasteurizada.

A Figura 7 representa a declaração nutricional das claras de ovo adquiridas do supermercado.

Declaração nutricional média por:	100g
Energia	208kJ/49kcal
Lípidos	<0,5g
Dos quais saturados	<0,5g
colesterol	<0,5g
Hidratos de carbono	0,7g
açúcares	<0,5g
Proteínas	10g
Sal	

Figura 7 - Declaração nutricional das claras de ovo adquiridas do supermercado.

No final, juntaram-se as quantidades já descritas anteriormente de feijão seco moído, miolo de pinhão moído, películas de uva e clara de ovo. Depois de se misturar bem manualmente com uma vareta, esta mistura foi dividida em porções de 20 gramas, foi guardada em sacos esterilizados e congelada. Posteriormente a mistura congelada foi liofilizada em liofilizador (CHRIST Alpha I-4 LSC basic) a uma temperatura de -53°C e pressão de 0,678mbar durante 4 dias.

A Figura 8 representa um fluxograma com as etapas da formulação das farinhas.

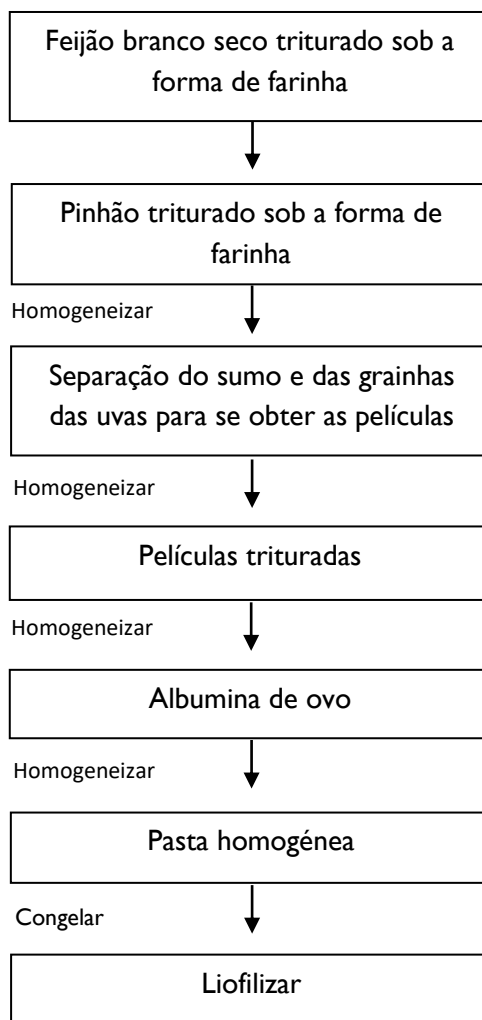


Figura 8 - Etapas da elaboração da farinha

10. Composição centesimal das formulações

Depois de liofilizadas as formulações, realizou-se a análise centesimal das mesmas, sendo os seguintes parâmetros avaliados: determinação da humidade, do teor de minerais totais, do fósforo, determinação da matéria gorda, da fibra e da proteína bruta.

A Tabela 10 apresenta resumidamente os parâmetros avaliados e os métodos/protocolos utilizados.

Tabela 10 - Parâmetros avaliados e o método/protocolo utilizado

Parâmetro avaliado	Método/protocolo utilizado
Humidade	NP-1614(1979)
Matéria gorda	NP-1224(1882) Determinação do teor lipídico método de Soxhlet.
Minerais totais	NP-872 (1983) Resíduo calcinado obtido, submetendo a amostra a uma temperatura de 600°C
Proteína bruta	NP-1996(1982) Método de Kjeldhal.
Fibra bruta	(AOAC,1975) Método de “Weende”
Açúcares totais	Diferença

10.1. Determinação da humidade por perda de peso, por aquecimento

Para se determinar a humidade por perda de peso, realizaram-se três ensaios da formulação 1 e três ensaios da formulação 2 e um ensaio em branco. Começou-se por colocar as cápsulas de fundo plano na estufa a 120°C durante 2h, depois de se retirarem as cápsulas da estufa estas foram colocadas num exsiccador e foram pesadas.

De seguida, pesou-se 5g de amostra para cada cápsula de cada formulação.

Todas as cápsulas foram para a estufa a 120°C durante 2h. Depois de estarem na estufa, as cápsulas foram retiradas, colocadas no exsiccador para arrefecerem à temperatura ambiente e por fim pesadas.

Tabela 11 - Pesos das cápsulas e amostra antes de irem para a estufa

	Cápsula 1	Amostra 1	Cápsula 2	Amostra 2	Cápsula 3	Amostra 3
Formulação 1	39,853g	5,000g	68,112g	5,005g	41,584g	5,012g
Total	44,853g		73,117g		46,596g	
Formulação 2	68,481g	5,001g	38,860g	5,000g	40,755g	5,000g
Total	73,482g		43,860g		45,755g	

Tabela 12 - Peso das cápsulas depois de estarem na estufa

	Formulação 1	Formulação 2
Cápsula 1	44,672g	73,362g
Cápsula 2	72,983g	43,755g
Cápsula 3	46,443g	45,639g

Para se calcular a humidade utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Humidade} = \frac{\text{Perda de peso}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$$

10.2. Determinação da matéria gorda

O teor de matéria gorda foi determinado pelo método de Soxhlet de acordo com o descrito na NP-1224 (2002) utilizando o éter de petróleo como solvente.

Primeiramente, seca-se o balão do aparelho de extração durante 1h na estufa a 103°C±2°C, depois deixa-se arrefecer o balão no exsiccador até atingir a temperatura ambiente

Realizaram-se 3 ensaios da formulação 1 e 3 ensaios da formulação 2, começou-se por pesar 3g a 5g de amostra para cada cápsula.

De seguida colocam-se as amostras dentro de cartuchos de papel de filtro e utilizando algodão humedecido retiram-se os vestígios de amostra que estão na cápsula e coloca-se o algodão dentro do cartucho. Coloca-se os cartuchos nos respetivos aparelhos de extração Soxhlet de 50ml devidamente identificados e estes são colocados dentro dos balões de fundo redondo de 250ml.

Introduz-se éter de petróleo dentro dos aparelhos de extração até perfazer uma sifonagem e meia, cerca de 130ml e colocam-se os balões na manta durante 6h.

Depois de se deixar arrefecer, retirou-se os aparelhos de extração e taparam-se os balões com parafilme para no dia a seguir estes irem para o evaporador rotativo. De seguida, colocaram-se os balões em banho-maria no evaporador rotativo com a finalidade de evaporar o éter de petróleo. Os balões com a gordura extraída, foram depois para a estufa durante 1h a $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ de modo a eliminar alguma humidade que pudesse existir e no final foram colocados no exsiccador. Por fim, os balões foram todos pesados.

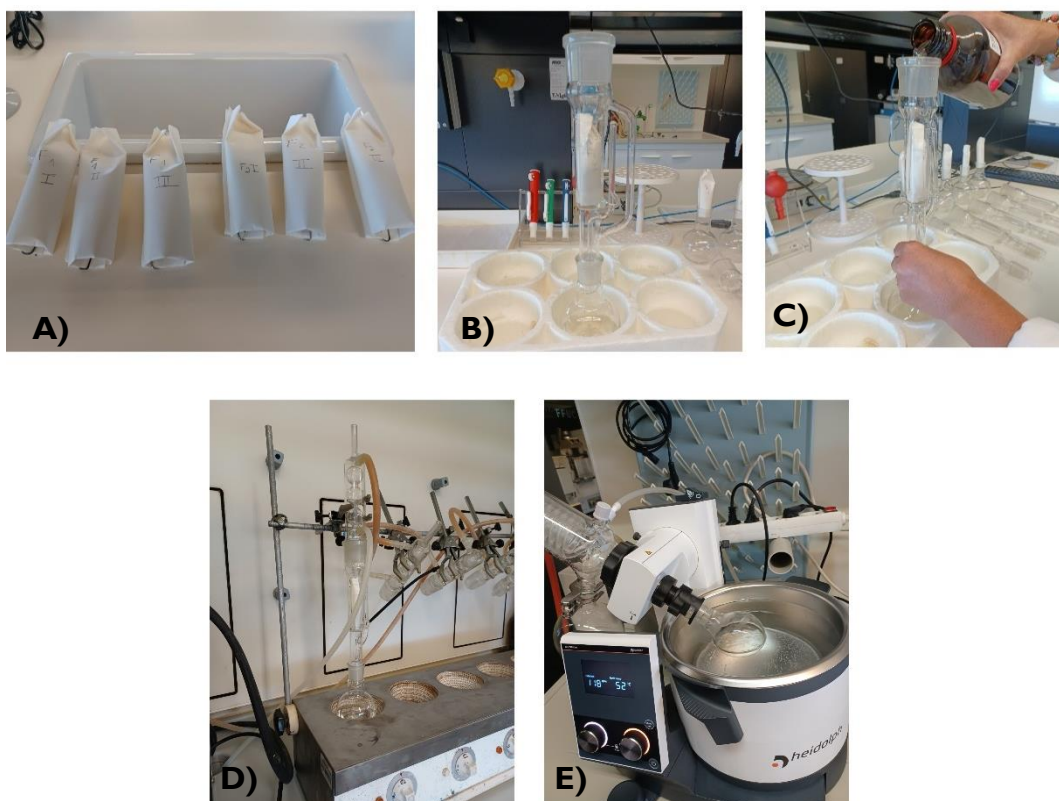


Figura 9 - Determinação da matéria gorda. A) cartuchos de papel com a amostra contida. B) Cartucho no balão do aparelho de extração. C) Introdução de éter de petróleo no balão do aparelho de extração. D) Balão na manta. E) Balão em banho-maria no evaporador rotativo.

Tabela 13 - Pesos das amostras em cada cápsula

	Formulação 1	Formulação 2
Amostra 1	3,064g	3,264g
Amostra 2	3,030g	3,234g
Amostra 3	3,103g	3,008g

Tabela 14 - Pesos iniciais e finais dos balões

	Formulação 1	Formulação 2
Balão 1 inicial	118,270g	84,712g
Balão 1 final	118,741g	85,188g
Balão 2 inicial	102,854g	118,572g
Balão 2 final	103,312g	119,036g
Balão 3 inicial	109,323g	108,067g
Balão 3 final	109,790g	108,532g

Para se calcular a matéria gorda, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\frac{m2 - m1}{m} \times 100$$

Onde,

m: peso da amostra

m2: peso do balão e da matéria gorda após secagem

m1: peso inicial do balão

10.3. Determinação do teor de minerais totais

A determinação do teor de minerais totais foi realizada consoante o descrito na NP-872 (1983).

Para se determinar o teor de minerais totais começou-se por pesar 2g de amostra para os cadinhos e de seguida estiveram a incinerar durante 2h no banho de areia. Depois de se retirarem os cadinhos do banho de areia, estes foram para a mufla a 600°C durante 3h. Por fim tiraram-se os cadinhos da mufla e colocaram-se os mesmos no exsiccador até arrefecerem à temperatura ambiente para se pesar.

Tabela 15 - Pesos dos cadinhos e das amostras

	Cadinho I	Amostra I	Cadinho II	Amostra II	Cadinho III	Amostra III
Formulação I	42,118g	2,033g	35,904g	2,015g	39,157g	2,004g
Formulação II	41,350g	2,018g	37,342g	2,084g	37,959g	2,022g

Tabela 16 - Pesos finais dos cadinhos

	Formulação I	Formulação II
Cadinho I	42,208g	41,425g
Cadinho II	35,953g	37,421g
Cadinho III	39,247g	38,035g

Para se calcular o teor de minerais totais utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Cinza total} = \frac{P2 - P1}{m} \times 100$$

Onde,

P2: peso final do cadinho

P1: peso inicial do cadinho sem a amostra

m: peso da amostra



Figura 10 - Cadinhos com a amostra no banho de areia para a determinação do teor de minerais totais

10.4. Determinação da proteína bruta

O teor de proteína bruta foi determinado pelo método de Kjeldahl de acordo com o descrito na NP-1996 (1982) em que se determina o teor de Azoto para se poder calcular o teor de proteína bruta.

Para se determinar a proteína bruta pesou-se 0,5g de amostra para tubos de mineralização, adicionou-se uma pastilha de selênio a cada tubo e 25ml de ácido sulfúrico concentrado e de seguida colocaram-se os tubos no aparelho de mineralização a 410°C até a mistura ficar toda sob a forma líquida incolor, que demorou cerca de 4h. Retiraram-se os tubos do mineralizador e deixou-se arrefecer até não se notarem vapores de ácido e juntou-se 75ml de água destilada.

De seguida colocou-se o tubo de mineralização e um Erlenmeyer de 250ml com 25ml de ácido sulfúrico (0,2N) e 3-4 gotas de vermelho de metilo no aparelho de destilação do Kjeltex System. Adicionou-se 50ml de solução alcalinizante ao Erlenmeyer (1kg de NaOH + 75g de hipossulfito de sódio + 1500ml de água destilada) e ligou-se o vapor para iniciar a destilação. Deixou-se a destilar até se atingir cerca de 150ml durante mais ou menos 5 minutos e desligou-se o vapor.

Depois de terminada a destilação, procedeu-se à titulação do destilado com solução de NaOH (0,2N) até viragem do indicador para amarelo. Realizou-se também um ensaio em branco utilizando 0,5g de sacarose que foi sujeita a todas as condições anteriormente descritas para a amostra.

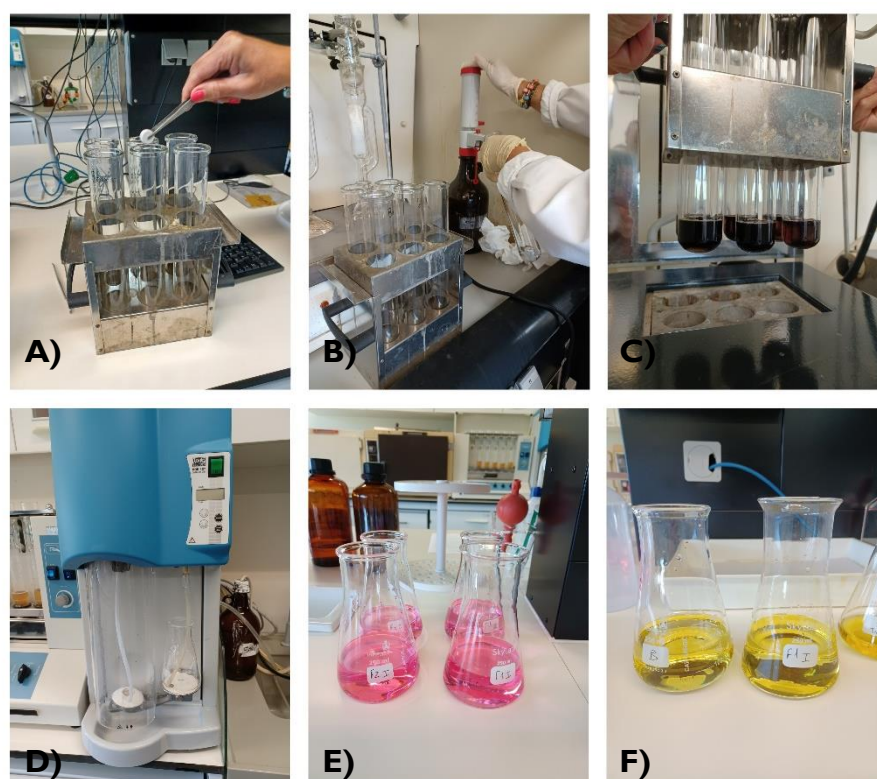


Figura II - Determinação da proteína bruta. A) Tubo de mineralização com a amostra e pastilha de selênio. B) Adição de ácido sulfúrico ao tubo de mineralização. C) Colocação dos tubos no aparelho de mineralização até o líquido se tornar incolor. D) Tubo de mineralização e balão de Erlenmeyer no aparelho de destilação. E) e F) Viragem do indicador para amarelo depois da titulação

Tabela 17 - Resultados da titulação

	Formulação I	Formulação II	Branco
Branco	-	-	23,9ml
Balão I	23,9ml	17,1ml	-
Balão II	17,3ml	17,7ml	-
Balão III	16,5ml	-	-

Para se calcular a percentagem de proteína utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{(V2 - V1) \times 0,28 \times 6,25}{P}$$

Onde,

V1: volume em ml de NaOH 0,2N gastos no ensaio real

V2: volume em ml de NaOH 0,2N gastos no ensaio em branco

P: peso em gramas da amostra

6,25: fator de conversão de Azoto em proteína bruta

10.5. Determinação da fibra bruta

A fibra bruta foi determinada pelo método de Weende (AOAC,1975) que consiste na digestão ácida e na digestão alcalina da amostra.

Começou-se por pesar em cadinhos 1g de amostra seca e desengordurada, proveniente dos cartuchos da determinação da matéria gorda, colocou-se os cadinhos no Fibertec e adicionou-se 100ml de ácido sulfúrico a 1,25% (0,26N) fervente e deixou-se ferver durante 30 minutos.

Desligou-se o aquecimento, filtrou-se e lavou-se o resíduo com água destilada fervente 3 vezes. De seguida adicionou-se 100ml de NaOH a 1,25% (0,32N) fervente e deixou-se ferver durante 30 minutos. Desligou-se o aquecimento e repetiu-se o processo de filtrar e lavar o resíduo com água destilada fervente.

Colocou-se os cadinhos na estufa durante 12h a 103°C, depois de saírem da estufa os cadinhos foram para o exsiccador para arrefecerem à temperatura ambiente e de seguida foram pesados. Por fim os cadinhos foram à mufla a 550°C durante 1h para a obtenção de cinzas brancas, quando saíram da mufla foram colocados no exsiccador para arrefecerem à temperatura ambiente e por fim foram pesados.

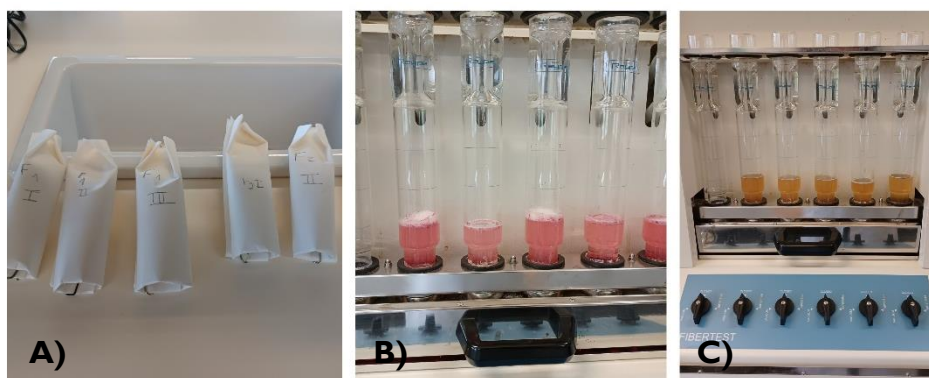


Figura 12 - Determinação da fibra bruta. A) Cartuchos de papel com a amostra desengordurada provenientes da determinação da matéria gorda. B) Cadinhos no Fibertec com ácido sulfúrico. C) Cadinhos no Fibertec depois da amostra ter sido filtrada e adicionada com NaOH.

Tabela 18 - Peso inicial dos cadinhos, do peso dos cadinhos depois de saírem da estufa e do peso dos cadinhos depois de saírem da mufla

	Peso inicial	Peso estufa	Peso mufla
Formulação I:			
Cadinho I	30,536g	29,736g	29,682g
Cadinho II	30,982g	30,173g	30,125g
Cadinho III	30,400g	29,602g	29,550g
Formulação II:			
Cadinho I	30,185g	29,375g	29,322g
Cadinho II	30,904g	30,094g	30,041g

Para se calcular o teor de fibra bruta (% de amostra seca e desengordurada) utilizou-se a seguinte fórmula:

$$Fibra\ bruta = \frac{(P1 - P2)}{m} \times 100$$

Onde,

P1: peso do cadinho com resíduo seco

P2: peso do cadinho com cinzas

m: peso da amostra

II. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos na análise da composição centesimal das formulações realizadas no laboratório da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) podem ser consultadas na tabela 19. Na Tabela 20 encontram-se os resultados determinados por outro laboratório de investigação que colaborou neste projeto de investigação e que efetuou para a formulação 1 a análise da composição centesimal complementando-a com a avaliação do perfil de ácidos gordos, análise do perfil de aminoácidos e quantificação de sódio.

A Tabela 19 apresenta para a formulação 1 e 2 os resultados em percentagem, da análise da composição centesimal efetuada no laboratório da FFUC

Tabela 19 – Resultados em percentagem da análise centesimal (Humidade, matéria gorda, teor de minerais totais, proteína bruta e fibra bruta)

Perfil nutricional	Formulação 1	Formulação 2
Humidade	3,12 ± 0,39	2,27 ± 0,13
Matéria gorda	15,18 ± 0,14	14,80 ± 0,48
Teor de minerais totais	3,78 ± 0,96	3,76 ± 0,03
Proteína bruta	24,45 ± 1,35	22,71 ± 1,05
Fibra bruta	28,32 ± 3,35	26,22 ± 1,15
Hidratos de Carbono totais	25,17 ± 1,35	30,24 ± 1,15

A Tabela 20 apresenta os resultados obtidos pelo laboratório de investigação colaborador.

Tabela 20 - Resultados obtidos pelo laboratório colaborador

Ensaio	Resultado	Unidade
Humidade	6.0	g/100g
Minerais totais	3.80	g/100g
Hidratos de Carbono	31.0	g/100g
Proteína	26.5	g/100g
Fibras Alimentares	21.1	g/100g
Gordura/Lípidos	11.54	g/100g
Sódio	0.67	g/100g
Ácidos Gordos Saturados	1.63	g/100g
Ácidos Gordos Monoinsaturados	4.30	g/100g
Ácidos Gordos Polinsaturados	5.61	g/100g
Açúcares Totais	3.00	g/100g

A Tabela 21 apresenta os resultados do Perfil de Aminoácidos obtidos pelo grupo de investigação colaborador.

Tabela 21 - Resultados do perfil de aminoácidos do suplemento, obtido pelo laboratório de investigação colaborador

Ensaio	Resultado	Unidade
Ácido Aspártico	2.96	g/100g
Ácido Glutâmico	4.29	g/100g
Alanina	1.17	g/100g
Arginina	2.56	g/100g
Cistina	0.36	g/100g
Prolina	1.08	g/100g
Fenilalanina	1.38	g/100g
Glicina	1.17	g/100g
Isoleucina	0.91	g/100g
Leucina	1.93	g/100g
Lisina	1.65	g/100g
Metionina	0.36	g/100g
Serina	1.76	g/100g
Tirosina	0.88	g/100g
Treonina	1.05	g/100g
Valina	1.20	g/100g
Histidina	0.70	g/100g

Como se pode observar, os resultados obtidos do laboratório da FFUC e do grupo de investigação colaborador para a formulação 1 são semelhantes nos parâmetros da humidade, teor de minerais totais, matéria gorda e proteína.

Comparando a composição da formulação 1 e da formulação 2, em que a formulação 2 tem aproximadamente o dobro da quantidade de pinhão e analisando a tabela de resultados 17, seria de esperar que a formulação 2 tivesse uma maior quantidade de matéria gorda e proteína, o que não se observou, tendo estes dois parâmetros sido menor na formulação 2 do que na 1.

O Regulamento (CE) n.º 1924/2006 referente às alegações nutricionais define alegação como “qualquer mensagem ou representação, não obrigatória nos termos da legislação comunitária ou nacional, incluindo qualquer representação pictórica, gráfica ou simbólica, seja qual for a forma que assuma, que declare, sugira ou implique que um alimento possui características particulares”.

Analisando o valor da proteína nos resultados obtidos do laboratório da FFUC e no laboratório colaborador, pode-se alegar que o produto tem um alto teor em proteína de acordo com o disposto no Regulamento (CE) n.º 1924/2006 em relação a esta alegação em que afirma que “Uma alegação de que um alimento tem alto teor em proteína, ou qualquer

alegação que possa ter o mesmo significado para o consumidor, só pode ser feita quando, pelo menos, 20% do valor energético do alimento for fornecido por proteína”. Do mesmo modo que, analisando o valor da fibra obtido do laboratório colaborador, pode-se alegar que o produto tem um alto teor em fibra, de acordo com o disposto no Regulamento (CE) n.º 1924/2006 que afirma que “Uma alegação de que um alimento tem alto teor em fibra, ou qualquer alegação que possa ter o mesmo significado para o consumidor, só pode ser feita quando o produto contiver, no mínimo, 6g de fibra por 100g ou, pelo menos, 3g de fibra por 100 kcal”.

A Tabela 22 apresenta a dose diária recomendada de aminoácidos estimada por 3 organizações em conjunto, a *World Health Organization* (WHO), a *Food and Agriculture Organization of The United Nations* (FAO) e a *United Nations University* (UNU)

Tabela 22 - Dose diária recomendada de aminoácidos estimada por 3 organizações em conjunto, a WHO, a FAO e a UNU [72].

Aminoácidos	Dose diária recomendada (mg/kg por dia)
Lisina	30
Leucina	39
Isoleucina	20
Valina	26
Treonina	15
Fenilalanina + Tirosina	25
Metionina	10
Cistina	4
Histidina	10
Total para os aminoácidos não essenciais	184

Tendo em conta as doses diárias recomendadas dos aminoácidos essenciais apresentados na Tabela 22 e as quantidades destes aminoácidos presentes no suplemento apresentadas na Tabela 21, pode-se concluir que o suplemento pode complementar um regime alimentar variado ajudando a alcançar a dose diária recomendada dos aminoácidos essenciais.

Pode-se referir também que o valor obtido referente à gordura/lípidos do laboratório colaborador foi de cerca de 12%, sendo composto maioritariamente por ácidos gordos monoinsaturados e ácidos gordos polinsaturados, sendo que apenas cerca de 2% da amostra é composta por ácidos gordos saturados. A quantidade de gordura presente no suplemento deve-se maioritariamente à presença do pinhão que como apresentado na

Tabela 6, na sua composição nutricional, em 100g o pinhão tem cerca de 46g de gorduras insaturadas.

O Regulamento (CE) n.º1924/2006 refere também que um alimento tem um baixo teor em açúcares se o produto não contiver mais de 5g de açúcar por 100g de produto, neste caso, sólido. Pode-se então afirmar que este produto tem um baixo teor de açúcares, e que estes são naturalmente presentes no produto, não tendo sido adicionados.

12. Conclusão

Em suma, as doenças neurodegenerativas atualmente constituem um problema global de saúde pública, em que este trabalho se insere, onde se apura o impacto da abordagem nutricional neste tipo de doenças, formulando uma farinha com ingredientes locais da dieta Mediterrânica como o feijão branco, o pinhão, a uva e a albumina de ovo, que pode ter potenciais benefícios nas doenças neurodegenerativas e capacidade de prevenção ou atraso no desenvolvimento destas doenças.

No geral, as doenças neurodegenerativas podem ter várias variáveis para a sua patogénese sendo elas, modificáveis ou não modificáveis ou até uma combinação das duas. Após a interpretação dos vários estudos consultados para a pesquisa bibliográfica, é de destacar que os principais mecanismos de desenvolvimento da DA podem ser prevenidos ao se adotar um estilo de vida saudável com uma alimentação adequada, no entanto, num mundo em que a população está cada vez mais envelhecida e que a inflação dos alimentos não permite que toda a gente tenha acesso a uma alimentação saudável e acessível, pode ser difícil de alcançar uma alimentação que preencha todos os requisitos, sendo assim é necessário reunir esforços para combater a má nutrição.

Nesse sentido e como se descreveu atrás, propusemo-nos a elaborar um suplemento alimentar com o intuito de providenciar de forma acessível e de fácil ingestão de modo a complementar um regime alimentar variado que possa ser usado para diminuir/adiar os efeitos da DA.

Neste trabalho não foi possível confirmar se o produto tem realmente o efeito pretendido de capacidade de prevenção das doenças neurodegenerativas, porquanto nunca tendo estado previstos os estudos com pessoas, o que se pretendia era a caracterização macronutricional do produto, o que julgamos ter conseguido. No entanto, relacionando a pesquisa bibliográfica realizada neste trabalho com os resultados obtidos da análise do

produto, pode-se afirmar que os resultados obtidos foram positivos e que recorrendo a este suplemento para complementar um regime alimentar variado, é possível que este tenha potenciais efeitos benéficos na prevenção das doenças neurodegenerativas. Porém, e como já referido, é necessário realizar ensaios clínicos para se saber se o suplemento tem o efeito pretendido.

Tendo em conta os objetivos delineados para este trabalho, os resultados alcançados mostraram-se promissores pelo que é-nos grato recomendar que este trabalho possa ser continuado, nomeadamente com ensaios com animais e de seguida com pessoas, incluindo a análise sensorial, para verificar a potencialidade dos efeitos atrás enunciados.

Por último, mas não menos importante, é também de destacar a importância de se realizar um estudo de mercado, depois de se verificar que o suplemento pode ter potenciais efeitos na prevenção da DA, de forma a compreender se existem partes interessadas em realizar os ensaios clínicos para eventualmente se poder comercializar o suplemento alimentar que, de forma experimental, aqui se apresentou.

14. Referências Bibliográficas

- [1] OU, Guan Yong; LIN, Wen Wen; ZHAO, Wei Jiang - Neuregulins in Neurodegenerative Diseases. **Frontiers in Aging Neuroscience**. . ISSN 16634365. 13:April (2021) 1–21. doi: 10.3389/fnagi.2021.662474.
- [2] ZHOU, Jin *et al.* - Fluorescent Diagnostic Probes in Neurodegenerative Diseases. **Advanced Materials**. . ISSN 15214095. 32:51 (2020) 1–43. doi: 10.1002/adma.202001945.
- [3] PRADEEP, Sushma *et al.* - Alzheimer’s Disease and Herbal Combination Therapy: A Comprehensive Review. **Journal of Alzheimer’s Disease Reports**. 4:1 (2020) 417–429. doi: 10.3233/adr-200228.
- [4] MORATÓ, Xavier *et al.* - Symptomatic and Disease-Modifying Therapy Pipeline for Alzheimer’s Disease: Towards a Personalized Polypharmacology Patient-Centered Approach. **International Journal of Molecular Sciences**. . ISSN 14220067. 23:16 (2022). doi: 10.3390/ijms23169305.
- [5] TATULIAN, Suren A. - Challenges and hopes for Alzheimer’s disease. **Drug Discovery Today**. . ISSN 18785832. 27:4 (2022) 1027–1043. doi: 10.1016/j.drudis.2022.01.016.
- [6] LANE, C. A.; HARDY, J.; SCHOTT, J. M. - Alzheimer’s disease. **European Journal of Neurology**. . ISSN 14681331. 25:1 (2017) 59–70. doi: 10.1111/ene.13439.
- [7] SIRE, Alessandro De *et al.* - Sarcopenic Dysphagia, Malnutrition, and Oral Frailty in Elderly: A Comprehensive Review. **Nutrients**. ISSN 2072-6643 (2022) 1–23. doi: 10.3390/nu14050982
- [8] OMAR, Syed Haris - Mediterranean and MIND diets containing olive biophenols reduces the prevalence of Alzheimer’s disease. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 20:11 (2019). doi: 10.3390/ijms20112797.
- [9] GARDENER, S. *et al.* - Adherence to a Mediterranean diet and Alzheimer’s disease risk in an Australian population. **Translational psychiatry**. ISSN 21583188. 2:June (2012). doi: 10.1038/tp.2012.91.
- [10] BCSD. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. Consultado em 25 de Janeiro de 2023. Disponível em: (<https://ods.pt/>)

- [11] VIPHAM, Jessie L. *et al.* - No food security without food safety: Lessons from livestock related research. **Global Food Security**. ISSN 22119124. 26:June (2020) 100382. doi: 10.1016/j.gfs.2020.100382.
- [12] KING, Thea *et al.* - Food safety for food security: Relationship between global megatrends and developments in food safety. **Trends in Food Science and Technology**. . ISSN 09242244. 68: (2017) 160–175. doi: 10.1016/j.tifs.2017.08.014.
- [13] DAS, Rajib *et al.* - Role of Withaferin A and Its Derivatives in the Management of Alzheimer's Disease: Recent Trends and Future Perspectives. **Molecules (Basel, Switzerland)**. . ISSN 14203049. 26:12 (2021). doi: 10.3390/molecules26123696.
- [14] ALZHEIMER EUROPE - Dementia in Europe yearbook 2019: Estimating the prevalence of dementia in Europe. **Alzheimer Europe**. (2019) 108.
- [15] 2021 Alzheimer's disease facts and figures - **Alzheimer's and Dementia**. ISSN 15525279. 17:3 (2021) 327–406. doi: 10.1002/alz.12328.
- [16] BERTRAM, Lars; TANZI, Rudolph E. - Genomic mechanisms in Alzheimer's disease. **Brain Pathology**. . ISSN 17503639. 30:5 (2020) 966–977. doi: 10.1111/bpa.12882.
- [17] MOSCONI, Lisa; PUPI, Alberto; LEON, Mory J. DE - Brain glucose hypometabolism and oxidative stress in preclinical Alzheimer's disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**. . ISSN 17496632. 1147:2008) 180–195. doi: 10.1196/annals.1427.007.
- [18] DU, Xiaoguang; WANG, Xinyi; GENG, Meiyu - Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. **Translational Neurodegeneration**. ISSN 20479158. 7:1 (2018) 1–7. doi: 10.1186/s40035-018-0107-y.
- [19] JU, Yaojun; TAM, Kin - Pathological mechanisms and therapeutic strategies for Alzheimer's disease. **Neural Regeneration Research**. ISSN 18767958. 17:3 (2021) 543–549. doi: 10.4103/1673-5374.320970.
- [20] WU, Tong *et al.* - Amyloid Cascade Hypothesis for the Treatment of Alzheimer's Disease: Progress and Challenges. ISSN 2152-5250. 13:6 (2022) 1745–1758.
- [21] AL-GHRAIYBAH, Nour F. *et al.* - Glial Cell-Mediated Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. 2022) 1–29.

- [22] CHENG, Yu Jung; LIN, Chieh Hsin; LANE, Hsien Yuan - Involvement of cholinergic, adrenergic, and glutamatergic network modulation with cognitive dysfunction in alzheimer's disease. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 22:5 (2021) 1–15. doi: 10.3390/ijms22052283.
- [23] JIWTODE, Urvi; CHAKOLE, Swarupa; BHATT, Neha - Alzheimer's Disease: History, Stages, Diagnosis and Its Future. **Journal of Pharmaceutical Research International**. 33:2021) 41–45. doi: 10.9734/jpri/2021/v33i39a32139.
- [24] LIANG, Jing Hong *et al.* - Comparison of multiple interventions for older adults with Alzheimer disease or mild cognitive impairment. **Medicine (United States)**. ISSN 15365964. 97:20 (2018). doi: 10.1097/MD.00000000000010744.
- [25] PISTOLLATO, Francesca *et al.* - Nutritional patterns associated with the maintenance of neurocognitive functions and the risk of dementia and Alzheimer's disease: A focus on human studies. **Pharmacological Research**. ISSN 10961186. 131:December 2017 (2018) 32–43. doi: 10.1016/j.phrs.2018.03.012.
- [26] WIMO, Anders; PRINCE, Martin. – World Alzheimer Report. **Alzheimer's Disease International**. (2010).
- [27] PRINCE, Martin *et al.* - World Alzheimer Report. **Alzheimer's Disease International**. (2015).
- [28] RAPP, Thomas *et al.* - Exploring the relationship between Alzheimer's disease severity and longitudinal costs. **Value in Health**. ISSN 10983015. 15:3 (2012) 412–419. doi: 10.1016/j.jval.2012.02.003.
- [29] SHANAHAN, Fergus; GHOSH, Tarini S.; O'TOOLE, Paul W. - The Healthy Microbiome—What Is the Definition of a Healthy Gut Microbiome? **Gastroenterology**. ISSN 15280012. 160:2 (2021) 483–494. doi: 10.1053/j.gastro.2020.09.057.
- [30] TU, Pengcheng *et al.* - Gut microbiome toxicity: Connecting the environment and gut microbiome-associated diseases. **Toxics**. ISSN 23056304. 8:1 (2020). doi: 10.3390/toxics8010019.
- [31] MUHAMMAD, Fahim *et al.* - The Molecular Gut-Brain Axis in Early Brain Development. **International journal of molecular sciences**. ISSN 1422-0067. 23:23 (2022). doi: 10.3390/ijms232315389.

- [32] LIN, Caixiu *et al.* - Microbiota-gut-brain axis and toll-like receptors in Alzheimer's disease. **Computational and Structural Biotechnology Journal**. ISSN 20010370. 17 (2019) 1309–1317. doi: 10.1016/j.csbj.2019.09.008.
- [33] LONG-SMITH, Caitríona *et al.* - Microbiota-gut-brain axis: New therapeutic opportunities. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**. ISSN 15454304. 60 (2020) 477–502. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010919-023628.
- [34] LIU, Longsha; HUH, Jun R.; SHAH, Khalid - Microbiota and the gut-brain-axis: Implications for new therapeutic design in the CNS. **eBioMedicine**. ISSN 23523964. 77 (2022) 103908. doi: 10.1016/j.ebiom.2022.103908.
- [35] GALVIN, James E. *et al.* - Early Stages of Alzheimer's Disease: Evolving the Care Team for Optimal Patient Management. **Frontiers in Neurology**. ISSN 16642295. 11:January (2021) 1–8. doi: 10.3389/fneur.2020.592302.
- [36] DETURE, Michael A.; DICKSON, Dennis W. - The neuropathological diagnosis of Alzheimer disease. *Molecular neurodegeneration*. ISSN 1750-1326. 14:32 (2019) 1-18. doi: 10.1186/s13024-019-0333-5.
- [37] BRIGGS, Robert; KENNELLY, Sean P.; O'NEILL, Desmond - Drug treatments in Alzheimer's disease. **Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London**. ISSN 14734893. 16:3 (2016) 247–253. doi: 10.7861/clinmedicine.16-3-247.
- [38] – Alzheimer Portugal. Terapêutica farmacológica. Consultado em 25 de janeiro de 2023. Disponível em: <https://alzheimerportugal.org/terapeutica-farmacologica/>
- [39] VACI, Nemanja *et al.* - Real-world effectiveness, its predictors and onset of action of cholinesterase inhibitors and memantine in dementia: Retrospective health record study. **British Journal of Psychiatry**. ISSN 14721465. 218:5 (2021) 261–267. doi: 10.1192/bjp.2020.136.
- [40] PARDO-MORENO, Teresa *et al.* - Therapeutic Approach to Alzheimer's Disease: Current Treatments and New Perspectives. **Pharmaceutics**. ISSN 19994923. 14:6 (2022) 1–20. doi: 10.3390/pharmaceutics14061117.
- [41] RAMÍREZ-SALAZAR, Sergio A. *et al.* - Dietary Insights in Neurological Diseases. **Current Neurology and Neuroscience Reports**. ISSN 15346293. 21:10 (2021) 1–11. doi: 10.1007/s11910-021-01143-w.

- [42] ANDREU-REINÓN, María Encarnación *et al.* - Mediterranean diet and risk of dementia and alzheimer's disease in the epic-spain dementia cohort study. **Nutrients**. ISSN 20726643. 13:2 (2021) 1–19. doi: 10.3390/nu13020700.
- [43] CROM, Tosca O. E. DE *et al.* - MIND diet and the risk of dementia: a population-based study. **Alzheimer's Research and Therapy**. . ISSN 17589193. 14:1 (2022) 1–10. doi: 10.1186/s13195-022-00957-1.
- [44] GALBETE, C. *et al.* - Galbete 2015_THE SUN PROJECT. **Nutrition Health Aging**. 19:3 (2015) 305–312.
- [45] HOSCHEIDT, Siobhan *et al.* - Mediterranean and Western diet effects on Alzheimer's disease biomarkers, cerebral perfusion, and cognition in mid-life: A randomized trial. **Alzheimer's and Dementia**. . ISSN 15525279. 18:3 (2022) 457–468. doi: 10.1002/alz.12421.
- [46] THAIPISUTTIKUL, Papan; GALVIN, James E. - Use of medical foods and nutritional approaches in the treatment of Alzheimer's disease. **Clinical Practice**. ISSN 20449038. 9:2 (2012) 199–209. doi: 10.2217/cpr.12.3.
- [47] LANGE, Klaus W. *et al.* - Medical foods in Alzheimer's disease. **Food Science and Human Wellness**. ISSN 22134530. 8:1 (2019) 1–7. doi: 10.1016/j.fshw.2019.02.002.
- [48] Decreto-Lei n.o 118/2015 (2015). Decreto-Lei n.o 118/2015, de 23 de junho. Diário da República n.o 120/2015, Série I-A de 2015-06-23, páginas 4389-4394.
- [49] MARTINS, A. *et al.* - Suplementos Alimentares: O que são e como notificar reações adversas. **Boletim de Farmacovigilância. INFARMED**. ISSN0873-7118. 21:3(2017) 1–4.
- [50] RUDRAPAL, Mithun *et al.* - Dietary Polyphenols and Their Role in Oxidative Stress-Induced Human Diseases: Insights Into Protective Effects, Antioxidant Potentials and Mechanism(s) of Action. **Frontiers in Pharmacology**. . ISSN 16639812. 13:February (2022) 1–15. doi: 10.3389/fphar.2022.806470.
- [51] SASAKI, Kazunori *et al.* - Grape skin extract modulates neuronal stem cell proliferation and improves spatial learning in senescence-accelerated prone 8 mice. **Aging**. ISSN 19454589. 13:14 (2021) 18131–18149. doi: 10.18632/aging.203373.
- [52] LI, Yao *et al.* - Quercetin, inflammation and immunity. **Nutrients**. ISSN 20726643. 8:3 (2016) 1–14. doi: 10.3390/nu8030167.

- [53] PASINETTI, Giulio Maria *et al.* - Roles of resveratrol and other grape-derived polyphenols in Alzheimer's disease prevention and treatment. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**. . ISSN 1879260X. 1852:6 (2014) 1202–1208. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.10.006.
- [54] ROCHA-GONZÁLEZ, Héctor I.; AMBRIZ-TUTUTI, Mónica; GRANADOS-SOTO, Vinicio - Resveratrol: A natural compound with pharmacological potential in neurodegenerative diseases. **CNS Neuroscience and Therapeutics**. . ISSN 17555930. 14:3 (2008) 234–247. doi: 10.1111/j.1755-5949.2008.00045.x.
- [55] PORQUET, David *et al.* - Dietary resveratrol prevents Alzheimer's markers and increases life span in SAMP8. **Age**. . ISSN 01619152. 35:5 (2013) 1851–1865. doi: 10.1007/s11357-012-9489-4.
- [56] SARROCA, Sara *et al.* - Resveratrol confers neuroprotection against high-fat diet in a mouse model of Alzheimer's disease via modulation of proteolytic mechanisms. **Journal of Nutritional Biochemistry**. . ISSN 18734847. 89:2021) 108569. doi: 10.1016/j.jnutbio.2020.108569.
- [57] PAULA, Pérez Corredor *et al.* - Preventive effect of quercetin in a triple transgenic Alzheimer's disease mice model. **Molecules**. . ISSN 14203049. 24:12 (2019) 1–10. doi: 10.3390/molecules24122287.
- [58] GANESAN, Kumar; XU, Baojun - Polyphenol-rich dry common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits. **International Journal of Molecular Sciences**. . ISSN 14220067. 18:11 (2017). doi: 10.3390/ijms18112331.
- [59] HAYAT, Imran *et al.* - Nutritional and Health Perspectives of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. . ISSN 10408398. 54:5 (2014) 580–592. doi: 10.1080/10408398.2011.596639.
- [60] MARTIN, C. Joe *et al.* - Genome-Wide Association Study of Seed Folate Content in Common Bean. **Frontiers in Plant Science**. ISSN 1664462X. 12:August (2021) 1–18. doi: 10.3389/fpls.2021.696423.
- [61] INSA - Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Composição de Alimentos (Insa_tca). Consultado em 27 de janeiro de 2023. Disponível em: <https://portfir-insa.min-saude.pt/foodcomp/introduction>

- [62] MIYAZAKI, Honami *et al.* - Adzuki bean (*vigna angularis*) extract reduces amyloid- β aggregation and delays cognitive impairment in drosophila models of alzheimer's disease. **Nutrition Research and Practice**. . ISSN 20056168. 13:1 (2019) 64–69. doi: 10.4162/nrp.2019.13.1.64.
- [63] LUCHSINGER, José A. *et al.* - Relation of higher folate intake to lower risk of Alzheimer disease in the elderly. **Archives of Neurology**. . ISSN 00039942. 64:1 (2007) 86–92. doi: 10.1001/archneur.64.1.86.
- [64] POLMANN, Gabriela *et al.* - Nuts and Nut-Based Products: A Meta-Analysis from Intake Health Benefits and Functional Characteristics from Recovered Constituents. **Food Reviews International**. ISSN 15256103. 00:00 (2022) 1–27. doi: 10.1080/87559129.2022.2045495.
- [65] BAKER, Ella J.; MILES, Elizabeth A.; CALDER, Philip C. - A review of the functional effects of pine nut oil, pinolenic acid and its derivative eicosatrienoic acid and their potential health benefits. **Progress in Lipid Research**. ISSN 18732194. 82:April (2021) 101097. doi: 10.1016/j.plipres.2021.101097.
- [66] THEODORE, Lauren E. *et al.* - Nut Consumption for Cognitive Performance: A Systematic Review. **Advances in Nutrition**. ISSN 21565376. 12:3 (2021) 777–792. doi: 10.1093/advances/nmaa153.
- [67] LIU, Yanmeng *et al.* - Multi-factor combined biomarker screening strategy to rapidly diagnose Alzheimer's disease and evaluate drug effect based on a rat model. **Journal of Pharmaceutical Analysis**. . ISSN 20951779. 12:4 (2022) 627–636. doi: 10.1016/j.jpha.2022.04.003.
- [68] ZHANG, Jianmei *et al.* - Mechanisms of the active components from Korean pine nut preventing and treating D-galactose-induced aging rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**. . ISSN 19506007. 103:September 2017 (2018) 680–690. doi: 10.1016/j.biopha.2018.04.063.
- [69] YU, Zhipeng *et al.* - Identification of ovalbumin-derived peptides as multi-target inhibitors of AChE, BChE, and BACE1. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. ISSN 10970010. 100:6 (2020) 2648–2655. doi: 10.1002/jsfa.10295.

[70] YU, Zhipeng *et al.* - Characterization of ACE-Inhibitory Peptide Associated with Antioxidant and Anticoagulation Properties. **Journal of Food Science**. . ISSN 00221147. 76:8 (2011) 1149–1155. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02367.x.

[71] YU, Zhipeng *et al.* - Biological evaluation and interaction mechanism of beta-site APP cleaving enzyme 1 inhibitory pentapeptide from egg albumin. **Food Science and Human Wellness**. . ISSN 22134530. 9:2 (2020) 162–167. doi: 10.1016/j.fshw.2020.01.004.

[72] HOLT, L. E.; SNYDERMAN, S. E. - Protein and Amino Acid Requirements of Infants and Children. **Nutrition abstracts and reviews**. . ISSN 00296619. 35:1965) 1–13.