

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

ANA CAROLINA BIANCO GOMES BARBOSA

**ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller): AVALIAÇÃO DA
COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, BIOATIVA E DO POTENCIAL
FUNCIONAL EM MULHERES COM SOBREPESO**

VILA VELHA
2024

ANA CAROLINA BIANCO GOMES BARBOSA

**ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller): AVALIAÇÃO DA
COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, BIOATIVA E DO POTENCIAL
FUNCIONAL EM MULHERES COM SOBREPESO**

Tese apresentada à Universidade Vila
Velha, como pré-requisito do Programa
de Pós-graduação em Biotecnologia
Vegetal, para a obtenção do grau de
Doutor (a) em Biotecnologia Vegetal

VILA VELHA

2024

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

B238o Barbosa, Ana Carolina Bianco Gomes .
 Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) : avaliação da composição
 físico-química, bioativa e do potencial funcional em mulheres com
 sobrepeso / Ana Carolina Bianco Gomes Barbosa. – 2024.
 75 f. : il.

 Orientadora: Denise Coutinho Endringer
 Tese (Doutorado em Biotecnologia vegetal) – Universidade Vila
 Velha 2024.
 Inclui bibliografias.

 1. Biotecnologia vegetal. 2. Alimentos funcionais.
 3. Emagrecimento. I. Endringer, Denise Coutinho. II. Universidade
 Vila Velha. III. Título.

CDD 660.603

ANA CAROLINA BIANCO GOMES BARBOSA

**ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller): AVALIAÇÃO DA
COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, BIOATIVA E DO POTENCIAL
FUNCIONAL EM MULHERES COM SOBREPESO**

Tese apresentada à Universidade Vila
Velha, como pré-requisito do Programa
de Pós-graduação em Biotecnologia
Vegetal, para a obtenção do grau de
Doutor (a) em Biotecnologia Vegetal

Aprovada em 29 de julho de 2024,

Banca examinadora:

Assinado eletronicamente.

Dra. Ana Raquel Santos de Medeiros Garcia (IFES)

Assinado eletronicamente.

Dra. Ana Claudia Hertel Pereira (MULTIVIX)

Assinado eletronicamente.

Dra. Kariane Rodrigues Sousa (UVV)

Assinado eletronicamente.

Dra. Denise Coutinho Endringer (UVV)
Orientadora

Relatório de assinaturas



**Denise Coutinho
Endringer**

CPF: 052.132.957-46
Data: 16/09/2024 11:49
IP: 10.1.1.1

Banca



**Kariane Rodrigues de
Sousa**

CPF: 335.467.918-27
Data: 25/09/2024 21:02
IP: 179.82.157.122
E-mail: sousa.kariane@gmail.com

Assinar



Ana Claudia Hertel

CPF: 109.313.637-56
Data: 25/09/2024 22:25
IP: 189.84.222.131
E-mail: anahertel@gmail.com

Assinar



Ana Raquel

CPF: 095.566.167-64
Data: 18/10/2024 00:28
IP: 187.64.174.175
E-mail: anamedeiros@ifes.edu.br

Assinar



Escaneie a imagem para verificar a autenticidade do documento ou utilize o link:

https://ged.uvv.br/ecm_validador?hash=TCOPHDMSWRD1YR1MV5BY

Hash SHA-512 do PDF original

bb3f142039f43c50f78175ff9502bbaa5007fdc1c2b6ff323210ac7a85fdfaf5df87a439807f5205
47ec61ac625cf65d80d01b26c28200f1239ff5e601e6b158



Ao Verbo, autor de toda ciência.
Ao meu amado esposo e sacerdote.
À minha mãe, mulher mais forte e exemplar que conheço.
Ao meu amado pai - *in memoriam*.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

"Àquele que está assentado no trono e ao Cordeiro sejam o louvor, a honra, a glória e o poder, para todo o sempre! " Ap. 5:13 - Ao que dá vida às criaturas, ao autor de toda ciência. Agradeço porque, apesar de mim, me revelou um pouco mais de quem Ele é e do seu amor, por meio da criação.

Ao meu amado esposo, Felipe. Meu sacerdote, protetor e provedor, por me afiar, me impulsionar, me acolher e abraçar o processo rumo ao propósito. Sua hombridade e amor me abençoaram em todo este processo.

À minha amada mãe, Ceni. Pelo zelo, suporte, amor, cuidado e dedicação incondicional. Pelo amor manifesto em obras durante toda a minha vida e, especialmente, durante a jornada que aqui se desdobra.

Aos meus pastores, líderes e amigos da Comunidade em Vila Velha (CEVV) pelo apoio, incentivo, orações e cuidado. A vida e testemunho de cada um de vocês edifica e aperfeiçoa minha fé.

À minha orientadora, professora Dr^a Denise Endringer, por me acolher, ressignificar e aperfeiçoar minha jornada na ciência. Sua vida e exemplo me inspiram.

Às amigas que esta jornada me trouxe: Carolina, Débora, Renata, Layla, Tuani, Priscylla, Kariane e Ana Cláudia. Vocês tornaram tudo isso possível. Quando precisei de uma milha, vocês caminharam comigo muito mais de uma. Obrigada!

Ao Guilherme e à Isadora, pelo apoio, dedicação e zelo em todas as análises da pesquisa durante a iniciação científica. Admiro e honro a vida de vocês, por todo o tempo dispendido, por todo aprendizado compartilhado, por me acompanharem sempre de mãos estendidas e braços abertos.

Aos professores, funcionários e colegas da Universidade Vila Velha, especialmente do Complexo Biopráticas e da clínica de Nutrição e Psicologia. Por fornecerem apoio, estrutura e por viabilizarem a realização deste estudo.

Aos professores Hildegardo Seibert França e Wanderson Romão, aos alunos e funcionários do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), pela disponibilidade e auxílio nas análises realizadas.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e contribuição ao avaliarem este trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pela bolsa de doutorado e recurso de pesquisa concedidos pelos editais Taxa de Bancada e PRONEM.

“A investigação científica é uma maneira de contemplar Deus. Nós admiramos a graça e a grandeza de Deus quando damos uma rápida olhada em como Ele nos criou e construiu o mundo em que vivemos.” Drª Caroline

SUMÁRIO

1.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
1.1 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANCS).....	13
1.3 METABOLISMO VEGETAL E METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	16
1.4 COMPOSTOS BIOATIVOS E FITOQUÍMICOS NO TRATAMENTO DA OBESIDADE	20
2. HIPÓTESE:.....	22
3. OBJETIVOS	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4. REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO 1.....	30
RESUMO	30
1. INTRODUÇÃO	31
2.MATERIAIS E MÉTODOS	33
2.2.DESENHO EXPERIMENTAL	33
2.3.COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	33
2.4PREPARO DO EXTRATO PARA ANÁLISES DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	34
2.5DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E FLAVONOIDES .	34
2.6DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	35
2.6.1MÉTODO 2,2'-AZINOBIS (ÁCIDO 3-ETILBENZOTIAZOLINA-6-SULFÔNICO) (ABTS)	35
2.6.2.MÉTODO 2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL (DPPH)	35
2.6.3.MÉTODO PODER ANTIOXIDANTE REDUTOR FÉRRICO (FRAP)	36
2.7CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC).....	36
3.RESULTADOS E DISCUSSÃO	37

3.1COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM FOLHAS DE ORA-PRO-NÓBIS DE DIFERENTES TAMANHOS	37
3.1.1COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	37
3.1.2ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	38
3.1.3IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	41
3.2COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E BIOATIVA DE FOLHAS DE ORA-PRO-NÓBIS EM DIFERENTES TEMPOS PÓS COLHEITA	44
3.2.1COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	44
3.2.2ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	45
3.2.3IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	47
4.CONCLUSÃO	49
5.CONFLITOS DE INTERESSE	49
6.AGRADECIMENTOS	49
7.REFERÊNCIAS	49
CAPÍTULO 2.....	53
RESUMO:	53
1.INTRODUÇÃO	54
2.MATERIAIS E MÉTODOS	55
2.1.MATERIAIS.....	55
2.2.DESENHO EXPERIMENTAL	56
2.3.COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	57
2.4PREPARO DO EXTRATO PARA ANÁLISES DE COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONÓIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	57
2.5DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS E FLAVONOIDES TOTAIS	57
2.6DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE: MÉTODO 2,2'-AZINOBIS (ÁCIDO 3-ETILBENZOTIAZOLINA-6-SULFÔNICO) (ABTS).....	58

2.7CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC).....	58
2.8ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO: RECRUTAMENTO E SELEÇÃO	59
2.9DESENHO DO ESTUDO	59
2.10RANDOMIZAÇÃO	61
3.RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
3.1COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	61
3.2ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, TEOR DE POLIFENÓIS E FLAVONÓIDES	64
3.3IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS	65
3.4ENSAIO CLÍNICO:	67
3.4.2FUNÇÃO INTESTINAL.....	68
3.4.3DADOS ANTROPOMÉTRICOS E DE COMPOSIÇÃO CORPORAL:	69
3.4.4PARÂMETROS BIOQUÍMICOS:	71
4.CONCLUSÃO	74
5.AGRADECIMENTOS	74
6.REFERÊNCIAS	74

RESUMO

BIANCO-GOMES, ANA CAROLINA, D.Sc, Universidade Vila Velha – ES, julho de 2024.
ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller): AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, BIOATIVA E DO POTENCIAL FUNCIONAL EM MULHERES COM SOBREPESO.
Orientadora: Denise Coutinho Endringer.

Esta tese apresenta uma breve revisão do conceito e características de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs), associando-a às características nutricionais, físico-químicas e potenciais bioativos da Ora-pro-nóbis (OPN), além disso, apresenta um resumo sobre metabolismo vegetal e metabólitos secundários. O primeiro artigo consiste na avaliação físico-química e bioativa de folhas de OPN em diferentes tamanhos e tempos pós-colheita, utilizando análises de composição centesimal, de atividade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP e de compostos bioativos (polifenóis e flavonoides). Este primeiro artigo conclui que folhas maiores e frescas possuem maior valor nutricional e potencial funcional, ressaltando, contudo, que o consumo de folhas até a terceira semana pós-colheita é recomendado, visto que as perdas nutricionais não devem ser relevantes quando associadas ao hábito alimentar. O segundo artigo tem como objetivo avaliar o consumo de farinha de OPN na saúde de mulheres com sobrepeso, avaliando parâmetros bioquímicos e antropométricos. O ensaio clínico possuiu duração de 12 semanas, promovendo o consumo diário de 20g de farinha entre os grupos teste (Ora-pro-nobis) e controle (Couve), seguido de crossover, totalizando 24 semanas ao todo. Os resultados indicam que a farinha de OPN apresenta potencial antioxidante, pela presença de compostos bioativos, como ácido gálico e rutina. Seu consumo não alterou significativamente o padrão alimentar de mulheres com sobrepeso e não foi capaz de alterar significativamente parâmetros antropométricos e bioquímicos avaliados. São necessários mais estudos que avaliem a ação da OPN como simbiótico na saúde humana. Este trabalho traz resultados inéditos, não publicados até o momento e abre espaço para futuras pesquisas que avaliem a influência da atuação conjunta entre outros compostos bioativos no emagrecimento e na saúde global de mulheres.

Palavras-chave: Ora-pro-nobis; Couve; Compostos bioativos; Alimentos funcionais; Armazenamento; Emagrecimento

ABSTRACT

BIANCO-GOMES, ANA CAROLINA, D.Sc, University of Vila Velha – ES, july, 2024.
ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller): EVALUATION OF PHYSICOCHEMICAL AND BIOACTIVE COMPOSITION AND FUNCTIONAL POTENTIAL IN OVERWEIGHT WOMEN. Advisor: Denise Coutinho Endringer.

This thesis presents a brief review of the concept and characteristics of Non-Conventional Food Plants (NCFPs), associating them with the nutritional, physicochemical and bioactive potential characteristics of Ora-pro-nóbis (OPN). In addition, it presents a summary of plant metabolism and secondary metabolites. The first article consists of the physicochemical and bioactive evaluation of OPN leaves in different sizes and post-harvest times, using analyses of centesimal composition, antioxidant activity by the DPPH, ABTS and FRAP methods and bioactive compounds (polyphenols and flavonoids). This first article concludes that larger and fresh leaves have greater nutritional value and functional potential, emphasizing, however, that the consumption of leaves up to the third week post-harvest is recommended, since nutritional losses should not be relevant when associated with dietary habits. The second article aims to evaluate the consumption of OPN flour in the health of overweight women, evaluating biochemical and anthropometric parameters. The clinical trial lasted 12 weeks, promoting the daily consumption of 20g of flour between the test (Ora-pro-nobis) and control (Cabbage) groups, followed by crossover, totaling 24 weeks in total. The results indicate that OPN flour has antioxidant potential, due to the presence of bioactive compounds, such as gallic acid and rutin. Its consumption did not significantly alter the eating pattern of overweight women and was not able to significantly alter the anthropometric and biochemical parameters evaluated. Further studies are needed to evaluate the action of OPN as a symbiotic in human health. This work brings unprecedented results, unpublished to date, and opens space for future research to evaluate the influence of the joint action of other bioactive compounds on weight loss and overall health of women.

Keywords: Ora-pro-nobis; Cabbage; Bioactive compounds; Funcional foods; Storage; Weight loss.

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Plantas alimentícias não convencionais (PANCs)

É previsto que a população mundial alcance 10 bilhões de habitantes até 2050 (FAO et al., 2019) e, neste contexto, sabe-se que será exigido um aumento da oferta de alimentos, a fim de suprir a demanda populacional. Contudo, sabe-se também que isso não pode ser alcançado exclusivamente pela expansão e aumento da agricultura industrial, devido às questões ambientais relacionadas à biodiversidade e desmatamento (ULIAN et al., 2020). Considerando que a fome e a insegurança alimentar já são uma questão de saúde pública, se reforça a necessidade de pensar em alternativas eficazes no combate a este problema, sem comprometer a questão ambiental (FAO et al., 2019).

Outro fator de risco para a segurança alimentar é observado pelo fato de que 60% das calorias e proteínas obtidas pela população na ingestão de plantas é dada por apenas 3 alimentos (arroz, trigo e milho). Tal fator predispõe à insegurança alimentar tanto pela alta demanda de produtividade, quanto pelos danos aos solos, causados pela monocultura (BRIONES ALONSO; COCKX; SWINNEN, 2018). Vale ressaltar ainda que a população mundial utiliza, aproximadamente, de 150 a 200 espécies de plantas comestíveis, quando o planeta Terra dispõe de aproximadamente 300 mil espécies de plantas comestíveis conhecidas (PEREIRA et al., 2023).

Alimentos sustentáveis são os alimentos que, além de fornecer nutrientes e compostos bioativos, também atenuam o impacto ambiental, que é geralmente causado pela monocultura tradicional. Dessa forma, são alimentos que além de benéficos a saúde do consumidor, impulsionam a economia e favorecem o meio ambiente (MARTINS et al., 2022). Neste contexto, as plantas silvestres podem ser uma alternativa viável do ponto de vista econômico, pois são facilmente cultivadas, e resistentes a situações de estresse como seca, submersão e ataques de pragas (PAUL et al., 2011).

Segundo Lima et al. (2021), Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs) são um grupo de plantas que, geralmente, não são consumidas, porém são consideradas alimentos por possuírem uma ou mais partes com potencial para nutrição humana. Tais plantas possuem propriedades nutricionais, bioativas e baixa

toxicidade. Anacleto et al. (2018) relata que, tais plantas possuem importância do ponto de vista do orçamento familiar e da economia local, pois podem ser uma ferramenta para garantir a segurança alimentar da população, em especial, das famílias de agricultores, devido ao seu potencial produtivo e aos valores nutricionais. As PANCs são boas alternativas alimentares devido ao seu elevado valor nutricional, em macro e micronutrientes, e seu fácil cultivo e manejo (ZEM et al., 2017).

No Brasil, já foram catalogadas mais de 3 mil espécies de PANCs, dentre hortaliças, raízes e frutas (BEZERRA; BRITO, 2020). Neste contexto, levando em consideração o aumento populacional, mudanças climáticas e desafios ambientais, a indústria de alimentos tem aumentado a incorporação de ingredientes alternativos, incluindo as PANCs, em produtos alimentícios, como forma de responder à demanda por alimentos agroecológicos, nutritivos e sustentáveis (MARTINS et al., 2022). Contudo, o consumo destas plantas entre a população ainda é relativamente baixo, comparado às plantas tradicionais. Isso ocorre devido à falta de conhecimento acerca de suas propriedades nutricionais e potenciais bioativos. Por isso, é crescente o número de estudos científicos que objetivam determinar e validar informações a respeito do tema (SILVEIRA-JUNIOR; DE FRANCISCO, 2020).

A composição nutricional e fitoquímica das PANCs varia de acordo com sua espécie, mas de forma geral, estudos indicam que as PANCs são alimentos ricos fibras, minerais, vitaminas e em compostos bioativos, tais como polifenóis, antocianinas, flavonoides, taninos, entre outros. Tais compostos conferem potencial antioxidante, antimicrobiano e anti-inflamatório às PANCs (LIMA et al., 2021; MARTINS et al., 2022; PEREIRA et al., 2023). A família *Cactaceae* apresenta diversas PANCs de interesse científico, devido aos potenciais bioativos já demonstrados (MARTINS et al., 2022).

1.2 Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller): Aspectos bioeconômicos e nutricionais

Pereskia aculeata Miller, popularmente conhecida, no Brasil, como Ora-pro-nóbis (OPN) é um exemplo de PANC, pertencente à família *Cactaceae*, que apesar de conhecida por parte da população, ainda é subutilizada na alimentação (SATO et

al., 2018). O gênero *Pereskia* é considerado o menos avançado da família *Cactaceae*, é composto por plantas trepadeiras, nativas da América do Sul, que se adaptam a baixas altitudes. A OPN é um cacto semi-lenhoso, com taxa de crescimento moderada, que apresenta caules longos e espinhosos, folhas elípticas, planas, suculentas e verde-escuras (MARSARO-JÚNIOR et al., 2011). Naturalmente, no Brasil, este gênero se distribui do Sul (Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) ao nordeste (Bahia) (SOUZA et al., 2016). Sua alta capacidade de disseminação no ambiente e sua alta capacidade competitiva, faz com que, apesar de seu elevado valor nutricional, a OPN seja considerada uma erva daninha em alguns países como África do Sul (AGOSTINI-COSTA et al., 2012).

É crescente o número de estudos que avaliam a composição nutricional e fitoquímica da OPN, bem como seu potencial bioativo e sua utilização na indústria de alimentos. Dentre seus componentes destacam-se altos percentuais de minerais, como cálcio, magnésio, manganês e zinco, fibras e mucilagens, vitaminas A e C, ácido fólico, flavonoides, como quercetina, ácidos orgânicos, como ácido cafeico, além de proteínas e aminoácidos, como lisina e triptofano (PINTO et al., 2015; SATO et al., 2018; DA SILVA-PORTO et al., 2021; SOUZA et al., 2016). Um estudo realizado por BARREIRA et al., (2021) analisou a composição nutricional da OPN e concluiu que ela pode ser considerada fonte de fibras totais, boa fonte de magnésio (Mg), cobre (Cu) e potássio (K), e uma excelente fonte de vitamina A, cálcio (Ca), manganês (Mn), ferro (Fe) e selênio (Se).

Outro estudo avaliou o potencial de utilização da OPN e seus componentes na indústria, concluindo que a mucilagem apresenta grande potencial no desenvolvimento de complexos ou micropartículas e que suas propriedades emulsificantes podem ser exploradas na indústria de alimentos. Os autores relatam também que a ação anti-inflamatória e anticancerígena da OPN indicam um potencial de aplicabilidade em produtos farmacêuticos, além da possibilidade de utilização de seus constituintes para a produção de biomateriais (DA SILVA-PORTO et al., 2021).

A composição da OPN também confere potencial funcional e bioativo, tanto na prevenção, quanto no tratamento de doenças. Na medicina tradicional, por exemplo, o uso de suas folhas está relacionado à ação cicatrizante e anti-inflamatória. Conforme resultados de Pinto e colaboradores (PINTO et al., 2015) a OPN não é apenas um

alimento vegetal com alto valor nutricional, mas também apresenta potencial analgésico. Barbalho e colaboradores (BARBALHO *et al.*, 2016) ao avaliarem a composição e o efeito metabólico da farinha de OPN demonstraram que seu consumo pode promover benefícios à saúde relacionados à melhora da motilidade intestinal, redução da gordura visceral e do perfil lipídico, bem como aumento dos níveis de HDL-c. Tais resultados corroboram para afirmar que a OPN é um alimento com potencial aplicabilidade na indústria de alimentos e como alimento funcional. Considerando o conteúdo de compostos bioativos, GARCIA *et al.*, (2019) identificaram dez compostos fenólicos, sendo o ácido caftárico o principal, compondo mais de 49% do conteúdo fenólico. Também foi observado potencial antioxidante e ação antimicrobiana dos extratos de folhas de OPN.

Outro estudo que avaliou, farinhas de caule e folhas, e da polpa de frutos de OPN apresentou teor de polifenóis totais de 0,25; 1,01 e 118,2 mg EAG. g⁻¹ de extrato, respectivamente. O potencial antioxidante pelo método do radical DPPH apresentou valores de 1,20; 1,40 e 1,50 mg de fruto g⁻¹ de DPPH para caule, folha e fruto, respectivamente. Tais resultados indicam que a OPN é um alimento com potencial funcional, podendo contribuir na prevenção de distúrbios associados à produção de radicais livres, sendo uma alternativa no enriquecimento de alimentos (CIRÍACO, MENDES e CARVALHO, 2023).

Embora existam estudos com a OPN, ainda não foi elucidado a influência de alguns parâmetros na composição de suas folhas, como tamanho, tempo pós-colheita e armazenamento, visto a escassez de estudos sobre o tema. Barbosa, Finger e Casali (2015) avaliaram o manejo e a vida útil pós-colheita de folhas de OPN e relataram que a temperatura de geladeira doméstica (aproximadamente 5°C) associada a embalagem plástica é mais eficaz na preservação da vida útil, aumentando-a em 7 dias e, na inibição do escurecimento das folhas. Contudo, a avaliação foi aplicada em tempo máximo pós-colheita de 168 dias e não avaliou parâmetros como atividade antioxidante, composição centesimal, entre outros.

1.3 Metabolismo vegetal e metabólitos secundários

Diferentemente das células animais, células vegetais possuem parede celular, que é formada nos primeiros estágios de desenvolvimento da célula. É uma estrutura composta, principalmente, por polímeros de polissacarídeos, como celulose, hemicelulose, pectina, podendo incluir também glicoproteínas e lignina (ZHANG *et al.*, 2021). A parede celular vegetal desempenha diversas funções nas células vegetais, garantindo a conformação, estrutura e sustentação, além de prover a comunicação intercelular e o suporte mecânico para o corpo da planta, conduzindo água e nutrientes (KEEGSTRA, 2010). Ela ainda é capaz de fornecer proteção contra estresses bióticos e abióticos, por meio da dinâmica de plasticidade celular, um mecanismo pelo qual a parede celular altera sua composição e estrutura em resposta a estímulos internos e externos (VAAHTERA; SCHULZ; HAMANN, 2019). Esta estrutura envolve o protoplasto, composto por citoplasma e núcleo, no qual encontramos estruturas características da célula vegetal, como o(s) vacúolo(s), os plastos e as substâncias ergásticas (MENEZES *et al.*, 2004).

Os vacúolos podem representar 90% do volume da célula e estão presentes em todas as plantas terrestres, com exceção de células vegetais imaturas e de algumas células vegetais muito maduras. Além disso, estão presentes também na maioria dos fungos e algas (exceto células procarióticas) (TAN *et al.*, 2019). Os vacúolos desempenham funções importantes nas células vegetais, incluindo a degradação de resíduos celulares, armazenamento de íons e proteínas, defesa da planta contra patógenos, homeostase do pH e crescimento da planta (KAISER; SCHEURING, 2020). Em relação a este tema, as células meristemáticas, ou seja, células indiferenciadas, que estão relacionadas ao crescimento da planta, possuem vários vacúolos pequenos. Enquanto as células derivadas, ou seja, células já diferenciadas, apresentam um único vacúolo central na maturidade, devido à fusão de vários vacúolos (MENEZES *et al.*, 2004). Sendo assim, é conhecido que a expansão dos vacúolos e as propriedades da parede celular representam componentes cruciais para definir o tamanho da célula e as taxas de crescimento (KAISER; SCHEURING, 2020).

Os vacúolos contêm água e várias substâncias inorgânicas e orgânicas, incluindo açúcares, ácidos orgânicos, proteínas, sais, pigmentos, entre outros compostos. Além disso, podem acumular também produtos do metabolismo secundário das plantas, incluindo compostos fenólicos, como antocianinas, e

alcaloides, como betalaínas (MENEZES *et al.*, 2004). Os metabólitos secundários foram os primeiros compostos encontrados nos vacúolos. Estes e outros componentes celulares, como proteínas, açúcares, taninos, ácidos orgânicos e íons, presentes nesta organela, desempenham um papel fundamental na resposta da planta a diferentes sinais biológicos/abióticos, e são normalmente produzidos para prevenir condições ambientais nocivas, como combate a patógenos e herbívoros. Sendo assim, de forma sucinta, é possível afirmar que os vacúolos vegetais são organelas multifuncionais com morfologia e dinâmica específicos, atuando desde a degradação celular até o transporte de metabolitos secundários (KAISER; SCHEURING, 2020).

Neste contexto, metabólitos são moléculas intermediárias e produtos do metabolismo, podendo ser classificados em primários ou secundários. Tais moléculas desempenham diversas funções, incluindo estrutura, sinalização, efeitos estimulantes inibitórios sobre enzimas, efeitos catalíticos, defesa e interações com outros organismos (PACHECO BORGES; AMORIM, 2020). Os metabólitos primários, estão relacionados ao processo de crescimento e desenvolvimento do tecido vegetal e incluem moléculas pequenas, tais como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos. Além disso, inclui moléculas maiores, sintetizadas a partir das menores, como proteínas, polissacarídeos, membranas, DNA e RNA (TIWARI; RANA, 2015; ZHAO; DAVIS; VERPOORTE, 2005). Os metabólitos secundários, por sua vez, não estão envolvidos em processos de geração de energia e não se apresentam da mesma forma entre as plantas, ao contrário, expressam a individualidade de famílias, gêneros e espécies de plantas. São substâncias vitais, pois atuam em mecanismos de propagação e defesa, exercendo atividades antimicrobianas, antivirais e antifúngicas. Metabólitos secundários são fontes de produtos farmacêuticos, aditivos alimentares, saborizantes e outros materiais que podem ser utilizados na indústria para a saúde humana (KABERA *et al.*, 2014; PACHECO-BORGES; AMORIM, 2020; TIWARI; RANA, 2015; ZHAO; DAVIS; VERPOORTE, 2005).

Didaticamente, autores classificam os metabólitos secundários em três grupos: terpenoides, alcalóides e compostos fenólicos. Destes, o grupo dos terpenóides é o grupo mais amplo e diverso, contando com aproximadamente 25.000 estruturas químicas até agora (KABERA *et al.*, 2014). Eles são derivados poliméricos de isopreno

e são sintetizados a partir do acetato, pela via do ácido mevalônico. Possuem estrutura complexa com diversos mecanismos de ação. Com base no número de unidades de cinco carbonos presentes em sua estrutura química, são divididos em várias subclasses: monoterpenóides, sesquiterpenóides, diterpenóides, triterpenóides e tetraterpenóides (BONCAN *et al.*, 2020). Desde a década de 80 já se estudava sobre as aplicações médicas e biomédicas dos terpenóides. Autores relatam que tais compostos apresentam propriedades farmacológicas, podendo ser utilizados no tratamento de doenças, como câncer, tanto em humanos e animais (HUANG *et al.*, 2012). Um estudo realizado em 2021 promoveu uma revisão do potencial bioativo de terpenóides encontrados em plantas, dos quais se destacam o potencial anti-inflamatório, antioxidante, anticâncer, antibacteriano, proteção da pele contra raios UV, entre outros (JAHANGEER *et al.*, 2021).

Os alcaloides compõem um grupo amplo e estruturalmente diverso, os quais podem ser encontrados em 300 famílias de plantas e em mais de 18 mil apresentações, com inúmeras atividades biológicas (BHAMBHANI; KONDHARE; GIRI, 2021). Uma vez que apresentam estrutura química diversa, a característica principal deste grupo é a presença de um átomo de nitrogênio que pode ocorrer na forma de uma amina primária, uma amina secundária ou uma amina terciária. Além disso, os alcaloides podem se apresentar como monômeros ou podem formar oligômeros (TYLER; SPEEDIE; ROBBERS, 1996). Os alcaloides podem ser divididos, de acordo com o seu processo de biossíntese, em três categorias principais: verdadeiro, proto e pseudo-alcaloides. Os alcaloides verdadeiros e protoalcaloides possuem um aminoácido como precursor, mas se diferem pela presença ou não do átomo N no heterociclo, respectivamente. Enquanto isso, pseudo-alcaloides não são derivados de aminoácidos e apresentam um esqueleto básico de carbono (BHAMBHANI; KONDHARE; GIRI, 2021). Os alcaloides têm sido investigados por apresentarem diversas atividades biológicas, incluindo potencial anticâncer, atividade antibacteriana e antiviral, por meio de diversos mecanismos de ação. No que diz respeito ao potencial antimicrobiano, por exemplo, são relatados que alcaloides tais como Tetrandrina e Fangchinolina atuam impedindo o crescimento microbiano de bactérias multirresistentes (CASCIARO *et al.*, 2020).

Os compostos fenólicos são caracterizados pela presença de, pelo menos, um anel aromático ligado a um grupo hidroxila, fenol. Tais compostos atuam no crescimento, desenvolvimento e reprodução da planta, funcionando como compostos de defesa contra estresses abióticos. Podem ser sintetizados por meio da via fenilpropanóide ou da via acetato de poliketídeo/malonato, produzindo monômeros ou polímeros de fenóis e polifenóis (NAIKOO *et al.*, 2019). Compostos fenólicos, incluindo fenóis simples, ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas, estilbenos, taninos hidrolisáveis e condensados, lignanas e ligninas são os metabólitos secundários mais abundantes em plantas (KUMAR, NARESH; GOEL, 2019).

Existem mais de 8 mil estruturas de compostos fenólicos conhecidos, variando entre fenóis simples, complexos e taninos. Tais estruturas podem ser classificadas em quatro grupos: incluindo ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e lignanas. De um modo geral, os polifenóis são mais armazenados em tecidos de proteção, tais como pericarpo, tegumento e casca, do que em tecidos nutricionais (germe, endosperma, entre outros.). Isso porque tecidos nutricionais armazenam grande teor de compostos como amido, proteínas e lipídios, implicando um conteúdo relativamente baixo de compostos fenólicos (WANG *et al.*, 2020). Assim como os demais metabólitos secundários apresentados anteriormente, os compostos fenólicos também apresentam potencial para a saúde humana, pois desempenham ações antioxidante, antienvelhecimento, antiproliferativa e anti-inflamatória. Sendo assim, é possível afirmar que o consumo de tais metabólitos secundários podem ser incluídos como coadjuvantes no consumo alimentar, promovendo a saúde humana (SUN; SHAHRAJABIAN, 2023).

1.4 Compostos bioativos e fitoquímicos no tratamento da obesidade

Compostos bioativos são constituintes que normalmente se apresentam em pequenas quantidades nos alimentos, exercendo efeitos benéficos para a saúde, além de um perfil nutritivo. Esses compostos são encontrados principalmente em frutas, vegetais, grãos integrais, legumes, óleos e castanhas, podendo ser ainda encontrados como produto da fermentação de microrganismos dentro do trato gastrointestinal. Nas plantas, tais compostos são geralmente produzidos como metabólitos secundários

(TEODORO, 2019). Estes metabólitos secundários, incluindo esteroides, alcalóides, fenólicos, lignanas e outros compostos bioativos possuem uma diversidade de propriedades biológicas benéficas para os seres humanos, tais como atividades antialérgica, anticancerígena, antimicrobiana, anti-inflamatória, hipoglicemiante, antioxidante, entre outras (TRAN; PHAM; LE, 2020). Já é comprovado que os polifenóis encontrados nas plantas possuem potencial antioxidante, com capacidade de eliminar os radicais livres, por meio da inibição de enzimas ou por quelar metais envolvidos na produção de radicais livres, além de protegerem o sistema de defesa antioxidante. Dessa forma, minimizam o dano oxidativo e os marcadores de estresse oxidativo, os quais, por sua vez, estão associados a diversas doenças como diabetes, Alzheimer, outras doenças neurodegenerativas, câncer, aterosclerose e obesidade (TEODORO, 2019).

O sobrepeso e a obesidade são considerados uma doença que caracteriza um problema de saúde pública, pois está associada ao aumento da incidência de outros distúrbios metabólicos, incluindo o diabetes tipo 2, hipertensão, doenças cardíacas, hepáticas e renais, além de alguns tipos de câncer. Ela é caracterizada por angiogênese, hipertrofia e hiperplasia do tecido adiposo. As causas da obesidade são multifatoriais e podem estar relacionadas à dieta hipercalórica, doenças genéticas, sedentarismo e fatores psicológicos (OJULARI; LEE; NAM, 2019). Neste contexto, estudos indicam que compostos bioativos naturais, como flavonoides e fenóis, são alternativas eficazes no tratamento do sobrepeso e obesidade. Como exemplos, citam-se a epigallocatequina galato (EGCG) do chá verde, curcumina de açafrão, e o resveratrol dos vinhos, que apresentaram efeitos benéficos no tratamento da obesidade, em estudos *in vivo* e *in vitro* (KAO *et al.*, 2016; TRAN; PHAM; LE, 2020). Algumas plantas como *Nigella sativa*, *Hibiscus sabdariffa*, *Ilex paraguariensis*, *Coffea arabica*, *Caralluma fimbriata*, *Panax ginseng* e muitos outros também apresentam efeitos positivos na obesidade por diferentes mecanismos como supressão do apetite; redução dos níveis de triglicerídeos; aumento da taxa metabólica; inibição da lipase pancreática, entre outros. Tais mecanismos promovem a diminuição da ingestão calórica, redução do risco de doenças cardiovasculares, aumento do gasto energético e diminuição da absorção de gorduras, respectivamente, favorecendo a perda de peso e a melhora da composição corporal (KUMAR, *et al.* 2022).

As fibras alimentares, especialmente fibras solúveis, compõem outro grupo de aliados ao tratamento e prevenção da obesidade. A ingestão de fibras solúveis está associada ao aumento da saciedade, à melhora dos níveis de lipídios no sangue e da resposta glicêmica (WADDELL; ORFILA, 2023). Além disso, está também relacionada a benefícios metabólicos, promovendo o aumento da excreção de ácidos biliares e de hormônios supressores do apetite, que atrasam a absorção de nutrientes e o esvaziamento gástrico (THOMPSON *et al.*, 2017). O consumo de fibras alimentares também está associado à modulação intestinal, que ocorre pela fermentação provocada pela microbiota gastrointestinal, promovendo a produção de compostos bioativos, como ácidos graxos de cadeia curta e média, que também podem afetar a ingestão e absorção de energia, além de melhorar marcadores bioquímicos de inflamação e estresse oxidativo (DELZENNE, 2020).

Neste contexto, dietas à base de plantas têm se tornado uma opção viável ao tratamento e prevenção da obesidade, pois além de serem, geralmente, hipocalóricas, contém compostos bioativos de plantas que podem atuar de forma coadjuvante ao tratamento (TURNER-MCGRIEVEY; MANDES; CRIMARCO, 2017).

2. HIPÓTESE:

- 1) Fatores como tamanho das folhas e tempo de armazenamento pós-colheita podem interferir nas características nutricionais e potenciais bioativos das folhas de Ora-pro-nóbis;
- 2) O consumo diário de farinha de Ora-pro-nóbis pode favorecer a melhora de parâmetros bioquímicos, antropométricos e nutricionais de mulheres com sobrepeso ou obesidade.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Avaliar as características físico-químicas, nutricionais e bioativas da Ora-pro-nóbis, *in vitro* e o efeito de seu consumo em mulheres com sobrepeso ou obesidade.

3.2 Objetivos específicos

1. Determinar a composição centesimal das folhas de Ora-pro-nóbis
2. Determinar o teor de compostos fenólicos e flavonoides das folhas de Ora-pro-nóbis
3. Determinar a atividade antioxidante *in vitro* das folhas de Ora-pro-nóbis
4. Identificar os compostos fitoquímicos das folhas de Ora-pro-nóbis
5. Avaliar o efeito do consumo de farinha de Ora-pro-nóbis por mulheres com sobrepeso ou obesidade sobre parâmetros bioquímicos (glicemia, colesterol total, HDL, LDL, Ureia, creatinina, hemograma completo, insulina, cortisol, IL-6, IL-10, Ferritina, Calcio e Nfkb)
6. Avaliar o efeito do consumo de farinha de Ora-pro-nóbis por mulheres com sobrepeso ou obesidade sobre parâmetros antropométricos (peso, IMC, circunferências de braço, de tórax, de cintura, de abdome, de quadril, de coxa e de panturrilha) e nutricionais (composição corporal, gordura visceral, taxa metabólica basal, entre outros).

4. REFERÊNCIAS

AGOSTINI-COSTA, Tânia da Silveira et al. Carotenoids profile and total polyphenols in fruits of *Pereskia aculeata* Miller. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 234-238, 2012.

ALMEIDA, MEF de et al. Chemical characterization of the non-conventional vegetable known as ora-pro-nobis. **Bioscience Journal**, v. 30, 431-439, 2014.

ALONSO, Elena Briones; COCKX, Lara; SWINNEN, Johan. Culture and food security. **Global food security**, v. 17, p. 113-127, 2018.

ANACLETO, Adilson et al. Non-conventional food plants in Paraná coast Brazil: a brief overview of production and trade. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 5, n. 12, p. 316-21, 2018.

BARBALHO, Sandra Maria et al. *Pereskia aculeata* Miller flour: metabolic effects and composition. **Journal of medicinal food**, v. 19, n. 9, p. 890-894, 2016.

BARBOSA, Camila Karen Reis; FINGER, Fernando Luiz; CASALI, Vicente Wagner Dias. Handling and postharvest shelf life of ora-pro-nobis leaves. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, p. 307-311, 2015.

BARREIRA, Tiberio Fontenele et al. Nutrient content in ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.): unconventional vegetable of the Brazilian Atlantic Forest. **Food Science and Technology**, v. 41, n. suppl 1, p. 47-51, 2020.

BEZERRA, Juliana Alves; DE BRITO, Marilene Magalhães. Potencial nutricional e antioxidantes das Plantas alimentícias não convencionais (PANCs) e o uso na alimentação: Revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e369997159-e369997159, 2020.

BHAMBHANI, Sweta; KONDHARE, Kirtikumar R.; GIRI, Ashok P. Diversity in chemical structures and biological properties of plant alkaloids. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3374, 2021.

BONCAN, Delbert Almerick T. et al. Terpenes and terpenoids in plants: Interactions with environment and insects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7382, 2020.

BRECHT, Jeffrey K. et al. Fisiologia pós-colheita de tecidos vegetais comestíveis. **Química de Alimentos de Fennema**, v. 4, p. 759-817, 2010.

CÂNDIDO, Hebert Teixeira et al. Green banana and ora-pro-nóbis mixed flours: nutritional and technological characteristics. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 25, p. e2022081, 2022.

CASCIARO, Bruno et al. Naturally-occurring alkaloids of plant origin as potential antimicrobials against antibiotic-resistant infections. **Molecules**, v. 25, n. 16, p. 3619, 2020.

CIRÍACO, Ariane Cristina de Almeida; MENDES, Ricardo de Moraes; CARVALHO, Vania Silva. Antioxidant activity and bioactive compounds in ora-pro-nóbis flour (*Pereskia aculeata* Miller). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 26, p. e2022054, 2023.

DA SILVA-PORTO, Fabiane Grecco et al. Pereskia aculeata leaves: properties and potentialities for the development of new products. **Natural Product Research**, v. 36, n. 18, p. 4821-4832, 2021.

DELZENNE, Nathalie M. et al. Nutritional interest of dietary fiber and prebiotics in obesity: Lessons from the MyNewGut consortium. **Clinical Nutrition**, v. 39, n. 2, p. 414-424, 2020.

DEMASI, Sonia et al. Sensory profile, shelf life, and dynamics of bioactive compounds during cold storage of 17 edible flowers. **Horticulturae**, v. 7, n. 7, p. 166, 2021.

FAO et al. *The state of food security and nutrition in the world 2019: safeguarding against economic slowdowns and downturns*. [S.l.]: **Food & Agriculture Org.**, 2019. v. 2019.

GARCIA, Jéssica AA et al. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (Pereskia aculeata Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food chemistry**, v. 294, p. 302-308, 2019.

HUANG, Min et al. Terpenoids: natural products for cancer therapy. **Expert opinion on investigational drugs**, v. 21, n. 12, p. 1801-1818, 2012.

JAHANGEER, Muhammad et al. Therapeutic and Biomedical Potentialities of Terpenoids-A Review. **Journal of Pure & Applied Microbiology**, v. 15, n. 2, 2021.

KAISER, Sabrina; SCHEURING, David. To lead or to follow: contribution of the plant vacuole to cell growth. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 553, 2020.

KAO, Erl-Shyh et al. Polyphenolic extract from Hibiscus sabdariffa reduces body fat by inhibiting hepatic lipogenesis and preadipocyte adipogenesis. **Food & function**, v. 7, n. 1, p. 171-182, 2016.

KEEGSTRA, Kenneth. Plant cell walls. **Plant physiology**, v. 154, n. 2, p. 483-486, 2010.

KREPSKY, Patricia Baier et al. Chemical composition and vasodilatation induced by Cuphea carthagenensis preparations. **Phytomedicine**, v. 19, n. 11, p. 953-957, 2012.

KUMAR, Mukul et al. A critical review on obesity: Herbal approach, bioactive compounds, and their mechanism. **Applied Sciences**, v. 12, n. 16, p. 8342, 2022.

KUMAR, Naresh; GOEL, Nidhi. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology reports**, v. 24, p. e00370, 2019.

LI, Hang et al. Nutritional values, beneficial effects, and food applications of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck). **Trends in Food Science & Technology**, v. 119, p. 288-308, 2022.

LIMA, Juliana França et al. Characterization of nonconventional food plants seeds *Guizotia abyssinica* (Lf) Cass., *Panicum miliaceum* L., and *Phalaris canariensis* L. for application in the bakery industry. **Agronomy**, v. 11, n. 9, p. 1873, 2021.

LISIEWSKA, Zofia; KMIECIK, Waldemar; KORUS, Anna. The amino acid composition of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), fresh and after culinary and technological processing. **Food Chemistry**, v. 108, n. 2, p. 642-648, 2008.

MARSARO-JÚNIOR, A. L. et al. First report of natural infestation of *Pereskia aculeata* Mill., (Cactaceae) by *Ceratitis capitata* (Wiedemann)(Diptera: Tephritidae) in Brazil. **Embrapa**. 2011.

MARTINS, Ana Cristina S. et al. Physical, nutritional, and bioactive properties of mandacaru cladode flour (*Cereus jamacaru* DC.): An unconventional food plant from the Semi-Arid Brazilian Northeast. **Foods**, v. 11, n. 23, p. 3814, 2022.

MENEZES, Nanuza Luíza de et al. Anatomia e morfologia de plantas vasculares. São Paulo: **USP-UFSCar**, 2004.

MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NAIKOO, Mohd Irfan et al. Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance: An overview. **Plant signaling molecules**, p. 157-168, 2019.

OJULARI, Oyindamola Vivian; LEE, Seul Gi; NAM, Ju-Ock. Beneficial effects of natural bioactive compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. on obesity. **Molecules**, v. 24, n. 1, p. 210, 2019.

PACHECO-BORGES, Larissa; ALVES AMORIM, Víctor. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, 2020.

PAUL, Alok Kumar et al. A survey of non-conventional plant items consumed during times of food scarcity by the Chakma people of Hatimara village of Rangamati District, Bangladesh. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 87-91, 2011.

PEIXOTO, Clóvis Pereira; PEIXOTO, M. F. S. P. Dinâmica do crescimento vegetal: princípios básicos. **Tópicos em ciências agrárias**, v. 38, 2009..

PEREA-LÓPEZ, Emeli Vanessa. Caracterización del proceso de senescencia de la flor de *Tigridia pavonia* (Lf) Dc. **Universidad Autónoma Del Estado De México: Facultad De Ciencias Agrícolas**. 2020.

PEREIRA, Lucélia Vieira et al. Nutritional aspects of non-conventional edible plants from Brazil: Caruru (*Amaranthus spinosus* L) and trapoeraba (*Commelina benghalensis*). **Food Research International**, v. 166, p. 112583, 2023.

PINTO, Nicolás de Castro Campos et al. *Pereskia aculeata*: A plant food with antinociceptive activity. **Pharmaceutical biology**, v. 53, n. 12, p. 1780-1785, 2015.

RIGUEIRA, Geysa Duarte Junger et al. Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 37, n. 2, p. 3-12, 2016.

SATO, Rie et al. Nutritional improvement of pasta with *Pereskia aculeata* Miller: a non-conventional edible vegetable. **Food Science and Technology**, v. 39, n. Suppl. 1, p. 28-34, 2018.

SILVEIRA-JUNIOR, José Francisco dos Santos; DE FRANCISCO, Alicia. Unconventional food plants as an alternative in starch production. **Cereal Foods World**, v.65, n.2, p. 81. 2020.

SOUZA, Lucèia Fàtima et al. *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: chemical composition and biological activities. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 9, p. 1478, 2016.

SUN, Wenli; SHAHRAJABIAN, Mohamad Hesam. Therapeutic potential of phenolic compounds in medicinal plants—Natural health products for human health. **Molecules**, v. 28, n. 4, p. 1845, 2023.

TAN, Xiaona et al. A review of plant vacuoles: formation, located proteins, and functions. **Plants**, v. 8, n. 9, p. 327, 2019.

TEODORO, Anderson Junger. Bioactive compounds of food: their role in the prevention and treatment of diseases. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, 2019.

THOMPSON, Sharon V. et al. Effects of isolated soluble fiber supplementation on body weight, glycemia, and insulinemia in adults with overweight and obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **The American journal of clinical nutrition**, v. 106, n. 6, p. 1514-1528, 2017.

TIWARI, Ruby; RANA, C. S. Plant secondary metabolites: a review. **International Journal of Engineering Research and General Science**, v. 3, n. 5, p. 661-670, 2015.

TRAN, Ngan; PHAM, Bao; LE, Ly. Bioactive compounds in anti-diabetic plants: From herbal medicine to modern drug discovery. **Biology**, v. 9, n. 9, p. 252, 2020.

TURNER-MCGRIEVY, Gabrielle; MANDES, Trisha; CRIMARCO, Anthony. A plant-based diet for overweight and obesity prevention and treatment. **Journal of geriatric cardiology: JGC**, v. 14, n. 5, p. 369, 2017.

TYLER, V. E.; SPEEDIE, M. K.; ROBBERS, J. E. Pharmacognosy and pharmacobiotechnology. **Williams and Wilkins, Maryland**, p. 337, 1996.

ULIAN, Tiziana et al. Unlocking plant resources to support food security and promote sustainable agriculture. **Plants, People, Planet**, v. 2, n. 5, p. 421-445, 2020.

VAAHTERA, Lauri; SCHULZ, Julia; HAMANN, Thorsten. Cell wall integrity maintenance during plant development and interaction with the environment. **Nature plants**, v. 5, n. 9, p. 924-932, 2019.

WADDELL, Isabella Skye; ORFILA, Caroline. Dietary fiber in the prevention of obesity and obesity-related chronic diseases: From epidemiological evidence to

potential molecular mechanisms. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 63, n. 27, p. 8752-8767, 2023.

WANG, Zhenyu et al. Review of distribution, extraction methods, and health benefits of bound phenolics in food plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 11, p. 3330-3343, 2020.

WOISKY, Ricardo G.; SALATINO, Antonio. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of apicultural research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

ZEM, Luciele Milani et al. *Pereskia aculeata*: biological analysis on wistar rats. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 42-47, 2017.

ZHANG, Baocai et al. The plant cell wall: Biosynthesis, construction, and functions. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 63, n. 1, p. 251-272, 2021.

ZHAO, Jian; DAVIS, Lawrence C.; VERPOORTE, Robert. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology advances**, v. 23, n. 4, p. 283-333, 2005.

CAPÍTULO 1

COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E BIOATIVA DE FOLHAS DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller.) EM DIFERENTES TAMANHOS E TEMPOS PÓS- COLHEITA

Ana Carolina BIANCO-GOMES¹, Guilherme CHIABAY-FONSECA², Isadora Bicalho ALMEIDA², Débora Correia SANTANA¹, Tuani Celestino BARBOSA², Dominik LENZ⁵, Hildegardo Seibert FRANÇA⁴, Wanderson ROMÃO⁴, Denise Coutinho ENDRINGER^{3*}.

¹ Universidade Vila Velha; Laboratório de Produtos Naturais. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal.

² Universidade Vila Velha; Laboratório de Produtos Naturais.

⁴ Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Vila Velha.

⁵ In Memoriam.

³ Autor correspondente. Universidade Vila Velha: Complexo Biopráticas - Avenida Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista II, Vila Velha, ES 29102-770, Brasil. denise.endringer@uvv.br

RESUMO

Pereskia aculeata Miller ou Ora-pro-nóbis (OPN) é uma planta da família Cactacea, amplamente distribuída na América do Sul e Central, e na região sul dos Estados Unidos. Apesar de ser pouco utilizada na dieta da população em geral, em estados brasileiros como Bahia e Minas Gerais, a OPN é conhecida devido ao seu alto teor proteico. Sabe-se que, após a colheita, fatores como processos respiratórios e de transpiração da planta são considerados os principais causadores de perdas pós-colheita e da diminuição da qualidade dos alimentos vegetais. O objetivo deste estudo foi avaliar a composição nutricional e bioativa das folhas de OPN em diferentes tempos pós-colheita (1 a 4 semanas a 5°C, em geladeira doméstica) e em diferentes tamanhos. Até o momento, não foi encontrado nenhum estudo que propusesse tais

análises. Para isso, as folhas foram analisadas quanto à composição físico-química, compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante. Observou-se que folhas frescas e maiores apresentaram os maiores teores de proteínas, compostos fenólicos, flavonoides e, conseqüentemente maior potencial antioxidante. Na terceira semana, aparentemente, ocorre aumento da disponibilização de compostos com potencial antioxidante, conferindo maior estabilidade à planta, mesmo após a colheita. A OPN é um alimento rico em nutrientes e com importante potencial antioxidante, podendo ser um aliado à saúde, principalmente no que tange às doenças crônico-degenerativas. Os resultados indicam que há diferença no conteúdo nutricional e bioativo em relação ao tamanho das folhas e tempo pós-colheita, de forma que o consumo de OPN deve ser encorajado, preferencialmente entre folhas médias e grandes, até 3 semanas, armazenada em temperatura de geladeira, acondicionada em embalagem plástica, higienizada e seca.

Palavras-chave: Ora-pro-nóbis; *Pereskia aculeata* Miller; Compostos bioativos; Tempo de pós-colheita; Alimento funcional

1. INTRODUÇÃO

Pereskia aculeata Miller ou Ora-pro-nóbis (OPN) é uma planta da família *Cactacea*, amplamente distribuída na América do Sul e Central, e na região sul dos Estados Unidos (SATO et al., 2018). Adapta-se a diferentes tipos de solo e não necessita de técnicas específicas de fertilização, sendo muito fácil de cultivar (OLIVEIRA et al., 2019).

No Brasil, a OPN é majoritariamente consumida nos estados da Bahia e Minas Gerais (GARCIA et al., 2019). As folhas de OPN se destacam pelo conteúdo proteico, alto teor de minerais como cálcio, magnésio, manganês, zinco, betacaroteno, vitamina C, ácido fólico, esteróis (sitosterol e estigmasterol), flavonoides e compostos fenólicos (VIEIRA et al., 2019).

Um estudo avaliando a composição nutricional da OPN de Minas Gerais - Brasil, relatou que essas folhas são fonte de betacaroteno, podendo corresponder a 22% da

necessidade de um indivíduo adulto, de acordo com a Ingestão Dietética Recomendada (DRI's). A oferta e biodisponibilidade deste nutriente é de grande relevância, principalmente para o público vegano/vegetariano, uma vez que a maior parte da oferta dietética de vitamina A é de origem animal (BARREIRA et al., 2021). Além disso, há um apelo à indústria para o desenvolvimento de produtos alimentícios provenientes de fontes sustentáveis, devido à projeção do crescimento populacional e às questões ambientais, visto que a produção de alimentos de origem animal em larga escala tem sido associada a questões ambientais, como o aumento da poluição e a diminuição da biodiversidade (MILIÃO et al., 2022).

Quanto ao potencial funcional das folhas de OPN, Vieira et al. (2020) relataram que a presença de compostos bioativos e fibras alimentares estavam relacionados a atividades antioxidante, anti-inflamatória e à melhora da motilidade intestinal. García et al. (2019) analisaram o perfil fitoquímico do extrato hidrometanólico de OPN e identificaram dez compostos fenólicos, sendo o ácido caftárico o mais abundante, correspondendo a mais de 49% do total. Segundo esses autores, o ácido caftárico tem potencial antioxidante, anti-inflamatório e antimutagênico. Da mesma forma, a rutina e suas derivações, segundo composto fenólico majoritário nas folhas de OPN, apresenta diversos potenciais, incluindo antimicrobiano, antifúngico, antialérgico e, atividade antioxidante.

Por outro lado, sabe-se que após a colheita o metabolismo da planta continua ativo. Tanto os processos respiratórios quanto os de transpiração são considerados os principais causadores de perdas pós-colheita e diminuição da qualidade dos alimentos vegetais (DEMASI et al., 2021). Nesse contexto, alguns estudos têm demonstrado que a baixa temperatura e embalagens plásticas apropriadas podem preservar características sensoriais e nutricionais (BARBOSA; FINGER; CASALI, 2015). Ainda assim, não há clareza sobre a qualidade nutricional, possíveis perdas de compostos bioativos no período pós-colheita, nem mesmo sobre diferenças entre tamanhos de folhas. Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a composição nutricional e bioativa das folhas de OPN em diferentes tempos pós-colheita e tamanhos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

As folhas de ora-pro-nóbis (OPN) foram coletadas aleatoriamente em uma propriedade particular do município de Vila Velha (20°21'19,2"S 40°18'43,1"W). Uma exsicata da planta (VIES055007) foi preparada e depositada no herbário da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES/ES). Os experimentos foram realizados nos Laboratórios do Complexo de Biopráticas da Universidade Vila Velha e no Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), localizados em Vila Velha, Espírito Santo – Brasil.

2.2. Desenho experimental

O experimento foi organizado seguindo um Delineamento Inteiramente Casualizado para avaliar a influência do tempo pós-colheita nas variáveis estudadas. Para avaliar a influência do tempo nos compostos nutricionais e bioativos das folhas de Ora-pro-nóbis (OPN), as amostras foram higienizadas e armazenadas em geladeira (5°C) de uma a quatro semanas, com análises semanais. Para analisar a influência do tamanho na composição, as folhas do OPN foram categorizadas em: tamanho pequeno (3 – 5,9 cm), tamanho médio (6 – 8,9 cm) e tamanho grande (9-11,9 cm), com base no tamanho médio das folhas. Todas as amostras foram coletadas no mesmo dia e preparadas para testes sob as mesmas condições.

2.3. Composição centesimal

O teor de umidade foi determinado por secagem em estufa a 105 °C até peso constante; Cinzas foram obtidas por incineração a 550 °C; Teor de nitrogênio foi determinado pelo método Kjeldahl, seguido de conversão do resultado em proteína bruta, utilizando o fator 5,75, referente às proteínas vegetais; Lipídios totais pelo método de extração Goldfish e o teor de carboidratos por diferença (AOAC, 1990, 2002). As calorias (kcal.100 g⁻¹) foram determinadas pelos valores de conversão de Atwater, que considera que 1 g de proteínas corresponde a 4 kcal, assim como carboidratos, enquanto 1 g de lipídios corresponde a 9 kcal (MERRILL e WATT, 1973).

2.4 Preparo do extrato para análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante

Para os extratos, 1 g da amostra foi macerado com 10 mL de mistura metanol: água na proporção de 60:40, até completa solubilização (PINTO, 2015). Em seguida, essa mistura foi colocada em um tubo plástico (Falcon®) e centrifugado a 6.000 rpm a 5 °C por 15 minutos. O sobrenadante foi filtrado e completado até 10 mL com água deionizada (KREPSKY et al., 2012). Todos os procedimentos foram realizados protegidos da luz e os extratos foram armazenados sob refrigeração, até a realização das análises.

2.5 Determinação de compostos fenólicos totais e flavonoides

O teor de compostos fenólicos foi realizado conforme Esquivel-Alvarado *et al.* (2020). Foram pipetados 25 µL de cada extrato em microplaca, seguidos de 10µL de Folin Ciocalteu 10% (Sigma®) e 215µL de Carbonato de Sódio 7,5% (Sigma®). Após três minutos, a absorbância foi lida a 715 nm em espectrofotômetro SpectraMax ® 190. A análise em branco foi realizada com água deionizada em substituição ao extrato. Foi criada uma curva analítica de ácido gálico (Dinâmica Ltda®) (0,04 – 1 mg/mL). Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de amostra de folhas (mg de EAC/1g de amostra de folhas).

O teor de flavonoides totais foi determinado segundo o método com cloreto de alumínio, proposto por Xu e Chang (2007), com modificações. Cada extrato foi diluído com água destilada (1:10). Foram adicionados 180 µL de cada extrato seguido de 15 µL de nitrito de sódio (NaNO₂) 2,5%. Após 6 min, foram adicionados 15 µL de cloreto de alumínio (AlCl₃) 10%, deixando em repouso por 5 min, e, em seguida 50 µL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) (0,1M). Após 10 minutos, à temperatura ambiente, a absorbância foi lida a 415 nm. O teor de flavonoides na amostra foi obtido a partir da construção de uma curva de analítica do padrão quercetina (1 – 0,16 mg.mL). Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de quercetina por 1 mg de amostra de folha (mg QE) (WOISKY; SALATINO, 1998). As análises foram realizadas em triplicata.

2.6 Determinação da atividade antioxidante

A análise da atividade antioxidante foi realizada utilizando os radicais ABTS, DPPH e FRAP.

2.6.1 Método 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS)

Para esse método, as soluções de 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e persulfato de potássio foram preparadas em água destilada até concentração de 7 mM e 2,45 mM, respectivamente. Estas duas soluções foram então misturadas e mantidas em repouso no escuro por 16 horas, para produzir o radical ABTS (ABTS^{•+}). Para o estudo da atividade antioxidante, a solução do radical ABTS foi diluída com etanol 50% até uma absorbância de $1,10 \pm 0,02$ em 734 nm. Foi realizada uma curva analítica de cada extrato em diferentes concentrações para medir a capacidade dos compostos bioativos em eliminar 50% do radical livre ABTS [•] + (IC₅₀). 30 µL de cada diluição foram pipetados em uma microplaca e adicionados de 270 µL de radical ABTS. Após 6 minutos, a absorbância foi lida a 734 nm em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise em branco foi realizada com metanol concentrado NEON® (AWIKA et al., 2003).

2.6.2. Método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

O reagente 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foi diluído em metanol até uma concentração de 40µL para uma absorbância de $1,00 \pm 0,1$ em 517nm. Uma curva analítica de cada extrato foi utilizada para medir a capacidade dos compostos bioativos em eliminar 50% do radical livre DPPH (IC₅₀). 20 µL de cada diluição e 280 µL do radical DPPH foram pipetados em uma microplaca de 96 poços. A leitura foi realizada em 517 nm após 60 minutos de incubação, protegido da luz, em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON® (LUO et al., 2018).

2.6.3. Método poder antioxidante redutor férrico (FRAP)

Para cada análise, utilizou-se uma solução de trabalho do poder antioxidante redutor férrico (FRAP) recém-preparada contendo: tampão acetato 0,3M (pH = 3,6) (solução A), TPTZ 0,01 mol/L (2,4,6-tripiridil-s-triazina) em HCl (ácido clorídrico) 0,04 mol/L (solução B) e 0,02 mol/L $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (solução C). As soluções foram misturadas na proporção 10:1:1 (v/v/v), respectivamente, e mantidos ao abrigo da luz. Assim como os outros métodos, uma curva analítica de cada extrato foi usada para medir a capacidade dos compostos bioativos em eliminar 50% do FRAP. 30 μL de cada diluição foram pipetados em uma microplaca de 96 poços e adicionados de 270 μL de solução FRAP. A leitura foi realizada a 595 nm após 10 minutos de incubação, ao abrigo da luz, em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON®. Os resultados também foram expressos através da atividade sequestradora de radicais (I): $I\% = [(Abs0 - Abs1) / Abs1] \times 100$. Onde: Abs0 = absorbância do branco e Abs1 = absorbância da amostra

2.7 Cromatografia Líquida de alta performance (HPLC)

A análise foi realizada conforme método de AL-TAIE et al. (2018). Para a análise, os extratos foram preparados a 0,25g/ml. As folhas foram selecionadas por tamanho e tempo e maceradas em metanol 60%, seguindo o método utilizado para as demais análises. Os extratos foram filtrados em filtros de 2,5 μg . Depois disso, 20 μL de cada amostra foram injetados no sistema HPLC modelo 1260 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA). Todos os produtos químicos utilizados foram de grau analítico. Os padrões de ácido trifluoroacético (TFA) e ácidos fenólicos foram adquiridos da Sigma - Aldrich (Steinheim, Alemanha). A fase estacionária foi a coluna cromatográfica Phenomenex C-18, tamanho de partícula de 3 μg (100 x 4,6 mm DI). A fase móvel foi o solvente A (ácido trifluoroacético - TFA) 0,1% em água deionizada e solvente B (acetonitrila). O gradiente foi programado para 0% B – 100% B por 10 min. Taxa de fluxo de 1mL/min seguida de UV a 360 nm para flavonóides, 280 nm para polifenóis e 254 nm para um espectro mais amplo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição nutricional e de compostos bioativos em folhas de Ora-pro-nóbis de diferentes tamanhos

3.1.1 Composição centesimal

Os resultados deste estudo se aproximam dos dados publicados por Barreira et al., (2021) que demonstraram teor de aproximadamente: 90% de umidade, 7% de carboidratos, incluindo fibras, 1,3% de proteínas e 1,5% de lipídeos. Os valores calóricos totais (VCTs) do presente estudo se diferem do mesmo estudo, visto não há diferenciação entre os carboidratos não digeríveis (fibras), que não acrescentam o mesmo valor calórico ao alimento, e carboidratos digeríveis. Estes autores avaliaram ainda o perfil de vitaminas e minerais da OPN, demonstrando que as folhas são boa fonte de potássio, cobre e excelente fonte de vitamina A, Calcio, Magnésio, Ferro, Manganês e Selênio. Outros estudos avaliaram a composição centesimal de OPN utilizando base seca e, portanto, apresentaram resultados superiores para componentes da matéria seca, incluindo lipídeos, proteínas, carboidratos e cinzas (ALMEIDA et al., 2014; CIRÍACO; MENDES; CARVALHO, 2023).

Tabela 1. Composição centesimal dos diferentes tamanhos de folhas de Ora-pro-nóbis.

Tamanho	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídeos (%)	Proteínas (%)	Carboidratos (%)	VCT (kcal)
Pequeno (P)	82,47 ± 0,29 ^b	2,63 ± 0,37 ^a	0,81 ± 0,09 ^b	2,56 ± 0,16 ^b	11,51 ± 0,19 ^a	63,63 ± 0,71 ^a
Médio (M)	84,30 ± 0,43 ^a	3,19 ± 0,02 ^a	1,18 ± 0,00 ^a	3,05 ± 0,11 ^a	8,26 ± 0,44 ^b	55,92 ± 1,82 ^b
Grande (G)	84,30 ± 0,62 ^a	3,36 ± 0,26 ^a	1,16 ± 0,45 ^{ab}	2,51 ± 0,03 ^b	8,65 ± 0,41 ^b	55,16 ± 5,77 ^{ab}

P: folha pequena (3 – 5,9 cm); M: folha média (6 – 8,9 cm); G: folha grande (9-11,9 cm). Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste t (post hoc) ao nível de 5% de probabilidade.

O maior teor de umidade foi observado entre as folhas médias e grandes, sem diferença significativa ($p > 0,05$) entre os resultados, conforme apresentado na Tabela 1. Tais dados podem estar relacionados ao tamanho dos vacúolos celulares, que

armazena diversos compostos, incluindo água. De igual forma, as maiores médias de cinzas e lipídeos também foram observadas nas folhas grandes, porém, sem diferença significativa entre os demais tamanhos.

Ainda neste contexto, o maior teor de carboidratos foi observado nas folhas P, proporcionalmente à quantidade de umidade das folhas. MENEZES et al. (2004) também apontam a relação entre percentual de carboidratos e umidade de folhas. Segundo Carvalho et al. (2009), durante o início do processo fotossintético, são produzidos os produtos primários, basicamente carboidratos, que se organizarão em açúcares simples (monossacarídeos) em formas complexas (dissacarídeos ou polissacarídeos). Tais substratos poderão ser utilizados na respiração e/ou utilizados para a síntese de material metabólico e estrutural, como proteínas, lipídeos e outros componentes orgânicos, na fase intermediária do processo fotossintético.

O maior conteúdo de proteínas foi observado nas folhas médias. Podendo esse resultado estar relacionado à idade celular das folhas, indicando uma fase de maior intensidade metabólica. Ao contrário, folhas pequenas estão iniciando a fase de diferenciação celular e folhas grandes que já possuem metabolismo reduzido, em fase de senescência, com menor interceptação de luz e diminuição no acúmulo de matéria seca (CARVALHO et al., 2009). Até o momento, não foram encontrados estudos que avaliem a composição nutricional de plantas em diferentes tamanhos.

3.1.2 Atividade antioxidante

De acordo com Lu et al. (2021), fatores como a diversidade e complexidade do mecanismo de reação antioxidante, o efeito de distribuição dos antioxidantes em um sistema heterogêneo e a influência de outros componentes no sistema de teste, podem gerar resultados diferentes na avaliação da capacidade antioxidante em diferentes métodos. Por isso, são utilizados diferentes ensaios simultaneamente para medir objetivamente a capacidade antioxidante.

Tabela 2. Atividade antioxidante, teor de polifenóis e flavonoides em folhas de Ora-pro-nóbis de diferentes tamanhos.

Tamanhos	DPPH IAA (%)	DPPH IC50 (µg/ml)	FRAP IC50 (µg/ml)	ABTS IC50 (µg/ml)	Polifenóis (mg mEq Ácido Gálico/g de folha)	Flavonoides (mg mEq Quercetina/g de folha)
Pequeno (P)	20,97 ± 0,95 ^c	1,93 ± 0,08 ^c	0,33 ± 0,01 ^a	1,99 ± 0,02 ^c	0,11 ± 0,00 ^a	2,44 ± 0,04 ^c
Médio (M)	26,80 ± 0,62 ^b	1,51 ± 0,03 ^b	0,27 ± 0,00 ^a	1,22 ± 0,03 ^a	0,12 ± 0,00 ^a	2,96 ± 0,08 ^b
Grande (G)	30,64 ± 0,3 ^a	1,32 ± 0,07 ^a	0,33 ± 0,02 ^a	1,77 ± 0,02 ^b	0,12 ± 0,00 ^a	3,19 ± 0,09 ^a

P: folha pequena (3 – 5,9 cm); M: folha média (6 – 8,9 cm); G: folha grande (9-11,9 cm). Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste t (post hoc) ao nível de 5% de probabilidade.

Dentre os métodos para determinação da capacidade antioxidante, foram utilizados o ABTS, DPPH, e, também, o teste do poder antioxidante redutor férrico (FRAP). Todos estes ensaios se baseiam em reações químicas e na avaliação da cinética ou do alcance do estado de equilíbrio. Para isso, utiliza-se da espectrofotometria, pressupondo a ocorrência de cores características ou a descoloração das soluções a analisar. Tais processos monitorados por adsorção em comprimentos de onda específicos (MUNTEANU, APETREI, 2021).

Por definição, antioxidantes são quaisquer substâncias capazes de retardar, prevenir ou remover o dano oxidativo para uma molécula alvo (GULCIN, 2020; HALLIWEL, 1995). Vários métodos e atividades estão envolvidos no processo de inibição da oxidação por esses compostos antioxidantes, que podem ser classificados em antioxidantes primários e secundários, de acordo com o seu mecanismo de ação. Os antioxidantes primários inibem a reação em cadeia de oxidação, atuando como doadores de hidrogênio ou aceitadores de radicais livres, gerando radicais mais estáveis. Este grupo se caracteriza por possuir principalmente estrutura fenólica e inclui: minerais antioxidantes, vitaminas antioxidantes e fitoquímicos, entre os quais estão flavonoides, catequinas, carotenoides, β-caroteno, licopeno, diterpeno e seus derivados (MUNTEANU, APETREI, 2021).

Não houve diferença significativa no potencial antioxidante expresso pelo método FRAP ($p > 0,05$). Por outro lado, nos métodos ABTS e DPPH, as folhas grandes e médias apresentaram maior potencial antioxidante, com diferença significativa entre

si ($p < 0,05$). No método ABTS, o maior potencial antioxidante foi expresso pelas folhas

médias e grandes, respectivamente ($p < 0,05$), enquanto no DPPH o maior potencial antioxidante foi observado nas folhas grandes. Tais resultados podem estar relacionados ao maior perímetro das folhas. Folhas maiores possuem maior capacidade de armazenamento e expressão de metabólitos secundários, como flavonoides, devido à expansão dos vacúolos e, conseqüente, maior capacidade de armazenamento de tais compostos (TAIZ, et al. 2021). Este resultado também pode ser observado na maior concentração de flavonoides nas folhas grandes e médias ($p < 0,05$), respectivamente.

O teor de compostos fenólicos e flavonoides encontrados neste estudo diferem do exposto por De Souza et al (2022). Isso pode ser explicado pelo uso de diferentes solventes na extração e também pelo uso da folha em base seca, na qual se obtém maior concentração de compostos químicos e bioativos, pela perda percentual de umidade.

3.1.3 Identificação e quantificação de compostos bioativos

Este estudo propôs ainda a identificação e quantificação de compostos bioativos em extratos metanólicos de folhas de OPN de diferentes tamanhos. Foram identificados os seguintes compostos: ácido gálico, ácido cafeico e rutina, em todas as folhas avaliadas, conforme expresso na Tabela 3 a seguir.

Tabela 3. Quantificação de compostos bioativos em folhas de Ora-pro-nóbis de diferentes tamanhos por método HPLC

Tamanho	Ácido Gálico ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Ác. Cafeico (mg/mg)	Rutina (mg/mg)
Pequeno (P)	$0,85 \pm 0,02^c$	$0,02 \pm 0,01^b$	$0,13 \pm 0,01^a$
Médio (M)	$1,06 \pm 0,04^b$	$0,03 \pm 0,00^b$	$0,13 \pm 0,00^a$
Grande (G)	$1,18 \pm 0,00^a$	$0,05 \pm 0,01^a$	$0,08 \pm 0,05^a$

P: folha pequena (3 – 5,9 cm); M: folha média (6 – 8,9 cm); G: folha grande (9-11,9 cm). Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste t (post hoc) ao nível de 5% de probabilidade.

Os ácidos fenólicos possuem diversos potenciais biológicos, tais como

potencial antidepressivo, anti-hipertensivo, anti-inflamatório, neuroprotetor, anti-

hiperglicêmico, anticancerígeno, entre outros (DE ARAÚJO, et al. 2021). O ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico (ácido gálico), é um ácido fenólico natural, produzido a partir do metabolismo secundário de plantas, amplamente encontrado em produtos naturais e plantas comestíveis. Se trata de um composto bioativo com diversos potenciais na saúde, sendo capaz de propor melhoria do perfil metabólico, além de atividades anti-inflamatória e antioxidante (BAI, et al. 2021). É relatado ainda que seu potencial antioxidante de sequestro de radicais livres é bem demonstrado por meio do poder antioxidante redutor de ferro (FRAP) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (XU, Yu et al, 2021). Estudos relacionam o consumo de ácido gálico à melhora e prevenção de síndrome metabólica e de doenças crônicas (BAI, et al. 2021; MONDAL, et al. 2021).

Outro ácido fenólico encontrado nas folhas de OPN foi o ácido cafeico. O ácido cafeico é o principal ácido hidroxicinâmico presente na dieta humana, sendo encontrado em diversas frutas, verduras, folhas e cafés. É conhecido que tal composto apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, imunomoduladoras, antibacterianas e antivirais. Neste contexto, o ácido cafeico e seus derivados têm demonstrado potencial para tratamento e prevenção de doenças crônicas e cardiovasculares (SILVA, LOPES, et al. 2020).

As maiores médias de ácido gálico e ácido cafeico foram observadas nas folhas grandes e médias, respectivamente. Este resultado está em concordância com o expresso na avaliação da atividade antioxidante (tabela 02), de forma que, as folhas que apresentaram maior atividade antioxidante possuem também as maiores concentrações de ácido gálico e ácido cafeico. Um estudo demonstrou que o ácido gálico pode ser encontrado de forma acumulada no peroxissomo, uma organela que está relacionada a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e que se encontra em tecidos fotossintéticos. Folhas com maior área, possuem maior área de fotorrespiração (ZHOU, et al. 2020). Tal fato pode explicar a maior quantidade de ácido gálico em folhas médias e grandes, em relação às folhas pequenas, além da contribuição do ácido gálico na homeostase da planta, por meio de ação antioxidante, atuando no controle de EROs (SILVEIRA, et al. 2010; TAIZ, et al. 2021).

Os resultados obtidos na quantificação de ácido gálico são superiores ao demonstrado por outros dois estudos publicados recentemente. Macedo, et al. (2023),

apresentou valores de 0,49 a 14,66µg/g-1 em diferentes métodos de extração, utilizando solução aquosa e extração em ultrassom. De Souza, et al. (2022) apresentou resultados de 0,62 e 0,47 mg/100 g⁻¹ de amostra, em base seca, em diferentes estações do ano (outono e inverno, respectivamente). Tais diferenças observadas podem estar relacionadas aos métodos de extração aplicados nos testes e às variações de fatores como solo, cultivo, genótipo que interferem diretamente na composição bioquímica de plantas (POTT; VALLARINO; OSORIO, 2020).

O conteúdo de ácido cafeico encontrado nas folhas grandes deste estudo, se aproximam dos resultados publicados por De Souza, et al. (2022), para folhas colhidas no inverno (0,05mg/mg); por Didini, et al. (2019), que encontrou valores entre 0,06 e 0,08mg/mg e por Souza, et al. (2014) que apresentou resultados de 0,03 a 0,15mg/mg.

A rutina (3',4',5',7-tetrahidroxi-flavona-3-rutinosídeo), também conhecida como vitamina P, é um flavonóide de grande relevância no campo científico, devido ao seu amplo potencial farmacológico. Tobar-Delgado, et al. (2023), citam sua atividade anti-inflamatória, antidiabética, cardiovascular, hepatoprotetora, anticancerígena e neuroprotetora. Não houve diferença significativa no conteúdo de rutina entre os diferentes tamanhos de folhas, indicando que, provavelmente o maior teor de flavonoides expressos na tabela 2 não se refere apenas à rutina, mas a outro flavonoide não identificado neste estudo. Os resultados aqui apresentados se assemelham aos dados publicados por De Souza, et al. (2022) que apresentaram valores de 0,09 a 0,12mg/mg de rutina entre as diferentes estações (outono e inverno).

3.2 Composição nutricional e bioativa de folhas de Ora-pro-nóbis em diferentes tempos pós colheita

3.2.1 Composição centesimal

Os resultados apresentados na Tabela 4 concordam com os resultados observados previamente, em folhas de diferentes tamanhos, e com a literatura. No que diz respeito à composição centesimal das folhas durante o armazenamento, foi observado que entre a primeira e segunda semana não houve diferenças ($p>0,05$) em nenhum dos componentes avaliados, indicando estabilidade da composição

centesimal. Contudo, a partir da terceira semana, observou-se redução no percentual de umidade e aumento no teor proteico ($p < 0,05$). Tais resultados estão relacionados ao processo de desidratação natural da planta, que ocorre pela força de tensão superficial elevada da água, que faz com que ela seja puxada para a superfície da planta, por evaporação. Dessa forma, uma vez destacada da planta, as folhas não são capazes de repor o conteúdo hídrico, sofrendo o processo de desidratação (BRECHT *et al.*, 2010).

Consequentemente, tem-se a concentração percentual do conteúdo proteico, indicado pelo aumento da média proteica nas folhas, ao decorrer do tempo, estabelecendo-se assim uma relação inversa entre o teor de umidade e o teor de proteínas. Além disso, durante o processo de senescência da planta, ocorre o aumento da síntese de RNA e aumento da taxa de transcrição. Tal fator resulta no aumento da síntese proteica, mesmo após a colheita (PEREA-LÓPEZ, 2020). Na última semana de armazenamento, foi observado aumento significativo de cinzas, lipídeos e proteínas, em relação à terceira semana. Tais resultados também podem estar relacionados à desidratação, que promove o aumento percentual dos demais componentes da planta, ou a fatores metodológicos. De qualquer forma, o valor calórico total das folhas não diferiu entre os tempos.

Tabela 4. Composição centesimal de folhas de Ora-pro-nóbis em diferentes tempos pós-colheita

Tempo pós-colheita	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídeos (%)	Proteínas (%)	Carboidratos (%)	VCT (%)
Semana 1	86,47 ± 0,42 ^a	2,04 ± 0,03 ^a	1,05 ± 0,09 ^a	2,17 ± 0,17 ^a	8,25 ± 0,52 ^a	51,20 ± 2,24 ^a
Semana 2	86,15 ± 0,14 ^a	2,30 ± 0,8 ^{ab}	1,16 ± 0,25 ^{ab}	2,41 ± 0,14 ^{ab}	7,96 ± 0,82 ^a	51,97 ± 4,19 ^a
Semana 3	85,58 ± 0,12 ^b	2,07 ± 0,36 ^a	0,84 ± 0,2 ^a	2,75 ± 0,26 ^b	8,74 ± 0,59 ^a	53,56 ± 2,49 ^a
Semana 4	85,13 ± 0,79 ^{ab}	3,15 ± 0,35 ^b	1,37 ± 0,03 ^b	3,23 ± 0,08 ^c	7,10 ± 1,25 ^a	53,69 ± 4,48 ^a

Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste t (post hoc) ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.2 Atividade antioxidante

Os resultados em função do tempo de armazenamento aqui expressos se aproximam dos resultados apresentados previamente, na análise em função do tamanho das folhas. A atividade antioxidante mensurada pelo método DPPH não apresentou diferença ($p < 0,05$) entre a semana 01 e semana 04, indicando estabilidade dos compostos antioxidantes. Semelhante a este resultado, o teor de compostos fenólicos também se manteve estável durante o tempo avaliado, sem diferença significativa ($p > 0,05$). Tais resultados indicam que, provavelmente, os compostos responsáveis pela atividade antioxidante mensurada no método DPPH, foram majoritariamente, compostos fenólicos. Tal correlação, entre atividade antioxidante mensurada pelo método DPPH e o conteúdo de compostos fenólicos totais foi comprovada por Foss; Przybyłowicz e Sawicki (2022). A ação antioxidante promovida pelos compostos fenólicos está intimamente relacionada à melhora da saúde global. Tais compostos podem favorecer o controle dos índices glicêmicos, a melhora dos parâmetros lipídicos, além de promoverem a inibição do processo oxidativo, eliminando radicais livres e espécies reativas de oxigênio, auxiliando na prevenção de doenças crônicas, como câncer e obesidade (SHI, 2022).

Tabela 5. Atividade antioxidante, teor de polifenóis e flavonoides em folhas de Ora-pro-nóbis em diferentes tempos pós-colheita

Tempo pós-colheita	DPPH IAA (%)	DPPH IC50 (µg/ml)	FRAP IC50 (µg/ml)	ABTS IC50 (µg/ml)	Polifenóis (mg mEq Ácido Gálico/g de folha)	Flavonoides (mg mEq Quercetina/g de folha)
Semana 1	24,6 ± 1,98 ^a	1,65 ± 0,13 ^a	0,46 ± 0,03 ^c	1,36 ± 0,01 ^a	0,11 ± 0,03 ^a	1,99 ± 0,06 ^a
Semana 2	19,1 ± 0,58 ^b	2,12 ± 0,06 ^b	0,31 ± 0,02 ^a	1,63 ± 0,04 ^b	0,13 ± 0,02 ^a	1,82 ± 0,03 ^b
Semana 3	23,97 ± 2,78 ^a	1,71 ± 0,19 ^a	0,36 ± 0,01 ^b	1,85 ± 0,04 ^c	0,11 ± 0,00 ^a	1,98 ± 0,01 ^a
Semana 4	20,73 ± 1,42 ^{ab}	1,95 ± 0,13 ^{ab}	0,36 ± 0,01 ^b	1,68 ± 0,02 ^b	0,10 ± 0,00 ^a	1,67 ± 0,05 ^c

Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste t (post hoc) ao nível de 5% de probabilidade.

A análise da capacidade antioxidante pelo método ABTS demonstrou maior potencial antioxidante na primeira semana, se diferenciando ($p < 0,05$) de todas as demais. Contudo, neste mesmo método, foi possível observar um aumento do potencial

antioxidante entre a terceira e quarta semana ($p<0,05$). Tal resultado pode estar relacionado ao aumento do metabolismo e expressão de compostos bioativos, também observado no método FRAP. O conteúdo de flavonoides apresentou diminuição ($p<0,05$) entre a primeira e a quarta semana, mas não diferiu entre a primeira e a terceira semana ($p<0,05$), indicando que pode ter havido oxidação dos compostos durante o armazenamento.

Após extraídos, flavonoides tendem a se tornar mais instáveis e suscetíveis à degradação devido à alteração de pH, exposição a luz e oxigênio, o que altera significativamente sua viabilidade (KOOP, 2022). Além disso, a significativa sensibilidade a fatores ambientais, como condições físicas, químicas e biológicas, o processamento e o armazenamento, também são capazes de alterar a viabilidade de compostos fenólicos, como flavonoides (FIGUEROA-ROBLES, 2021). Sendo assim, os resultados apresentados sugerem que o consumo das folhas de OPN até a terceira semana demonstra garantir maior atividade antioxidante e teor de flavonoides.

3.2.3 Identificação e quantificação de compostos bioativos

Os resultados indicam que existe estabilidade de compostos bioativos até a terceira semana pós-colheita, com um aumento significativo ($p<0,05$) na segunda semana. A quantificação e identificação de compostos bioativos concordam e conferem maior clareza aos resultados observados anteriormente na determinação da atividade antioxidante das folhas de OPN, em função do tempo pós-colheita. Na segunda semana, tempo com maior atividade antioxidante, segundo método FRAP, e maior teor de CFT, foi observado também o aumento do teor de ácido gálico ($p<0,05$) e de rutina ($p<0,05$), indicando aumento do metabolismo e expressão destes compostos.

Tabela 6. Quantificação de compostos bioativos em folhas de Ora-pro-nóbis em diferentes tempos pós-colheita

Tempo (semanas)	Ácido Gálico ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Ác. Ferúlico (mg/mg)	Rutina (mg/mg)
-----------------	---	---	-------------------------------------

Semana 1	0,93 ± 0,00 ^b	nd	0,07 ± 0,00 ^d
Semana 2	1,15 ± 0,04 ^a	nd	0,13 ± 0,00 ^a
Semana 3	0,87 ± 0,05 ^b	0,19 ± 0,00	0,08 ± 0,00 ^c
Semana 4	0,24 ± 0,00 ^c	nd	0,09 ± 0,00 ^b

Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste t (post hoc) ao nível de 5% de probabilidade.

O aumento de CFT já foi observado anteriormente em outros estudos e se justifica pela biossíntese em resposta a fatores como estresses abióticos, desidratação, continuação de processos de amadurecimento e/ou senescência, murchamento e ativação de enzimas (ZENONI, et al. 2016; FRANCINI; SEBASTIANI, 2013). CHEN, et al. (2021) demonstraram que o estresse de desidratação é capaz de promover o acúmulo de ácido gálico, devido ao aumento dos níveis de expressão dos genes relacionados à sua biossíntese. ZHU, et al (2023) também demonstraram que durante o tempo de armazenamento pós-colheita, os genes reguladores da produção de flavonoides, como a rutina, apresentam uma dinâmica de aumento e diminuição de níveis, resultando na maior ou menor concentração de flavonoides em tempos específicos. O conteúdo de rutina foi significativamente ($p < 0,05$) maior na quarta semana, diferentemente do teor de flavonoides totais, indicando que apesar deste composto apresentar-se mais estável, outros flavonoides foram degradados pela senescência ao decorrer do tempo.

Diferentemente da análise por tamanho de folhas, na análise dos compostos em função do tempo pós-colheita, não foi identificado ácido cafeico. Além disso, foi encontrado ácido ferúlico apenas na terceira semana. Estes dados podem estar relacionados a algum viés metodológico e, portanto, mais estudos são necessários para averiguar tal resultado. Uma avaliação dos resultados permite concluir que o armazenamento das folhas de OPN a 5°C, em folhas plásticas, é efetivo, preservando suas características até a terceira semana, sendo que o melhor tempo pós-colheita para consumo é a segunda semana, pelo maior acúmulo de compostos fenólicos, como ácido gálico, de flavonoides, como a rutina e, conseqüentemente, maior

potencial antioxidante. Durante a quarta semana, além do murchamento, observa-se a redução significativa da atividade antioxidante, de flavonoides e de ácido gálico.

4. CONCLUSÃO

O valor nutricional e o potencial funcional das folhas de Ora-pro-nobis (OPN) foram evidenciados. Folhas frescas e maiores apresentaram os maiores conteúdos de proteínas, maior conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides e, conseqüentemente maior potencial antioxidante. Na segunda semana, aparentemente, ocorre aumento da disponibilização de compostos com potencial antioxidante, conferindo maior estabilidade à planta, mesmo após a colheita. A OPN é um alimento rico em nutrientes e com importante potencial antioxidante, podendo ser um aliado à saúde, principalmente no que tange à prevenção das doenças crônico-degenerativas. Os resultados indicam que o consumo de OPN deve ser encorajado, preferencialmente entre folhas médias e grandes, entre a primeira e terceira semana pós colheita, com melhor aproveitamento na segunda semana.

5. CONFLITOS DE INTERESSE

Não há conflitos a declarar.

6. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) pela Concessão de bolsa de doutorado e recurso de pesquisa pelos editais PRONEM e Taxa de bancada.

7. REFERÊNCIAS

AL-TAIE, Ghassan Radam Idan et al. A comparative study of the phenolic compounds of some Brassicaceae taxa by High-performance liquid chromatography (HPLC) technique. **Tikrit Journal of Pure Science**, v. 23, n. 2, p. 45-48, 2018.

BAI, Jinrong et al. Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 133, p. 110985, 2021.

CHEN, Keqin et al. Postharvest dehydration temperature modulates the transcriptomic programme and flavonoid profile of grape berries. **Foods**, v. 10, n. 3, p. 687, 2021.

DE ARAÚJO, Fábio Fernandes et al. Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. **Food chemistry**, v. 338, p. 127535, 2021.

DE SOUZA, Antonio Henrique et al. Influence of harvest time on the chemical profile of pereskia aculeate mill. Using paper spray mass spectrometry. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4276, 2022.

DIDINI, C. N. Perfil químico e capacidade antioxidante de plantas alimentícias não convencionais encontradas no Rio de Janeiro. **Centro de Ciência da Saúde, Instituto de Nutrição Josué Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana. Rio de Janeiro**, 2019.

ESQUIVEL-ALVARADO, D. et al. Composition of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Three Tropical Vaccinium Species from Costa Rica. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 10, p. 2872–2879, 11 mar. 2020.

FIGUEROA-ROBLES, Alejandra; ANTUNES-RICARDO, Marilena; GUAJARDO-FLORES, Daniel. Encapsulation of phenolic compounds with liposomal improvement in the cosmetic industry. **International journal of pharmaceutics**, v. 593, p. 120125, 2021.

FOSS, Kamil; PRZYBYŁOWICZ, Katarzyna E.; SAWICKI, Tomasz. Antioxidant activity and profile of phenolic compounds in selected herbal plants. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 77, n. 3, p. 383-389, 2022.

FRANCINI, Alessandra; SEBASTIANI, Luca. Phenolic compounds in apple (*Malus x domestica* Borkh.): compounds characterization and stability during postharvest and after processing. **Antioxidants**, v. 2, n. 3, p. 181-193, 2013.

GARCIA, Jéssica AA et al. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food chemistry**, v. 294, p. 302-308, 2019.

GULCIN, İlhami. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. **Archives of toxicology**, v. 94, n. 3, p. 651-715, 2020.

HALLIWELL, Barry. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. **Biochemical pharmacology**, v. 49, n. 10, p. 1341-1348, 1995.

KOOP, Betina Luiza et al. Flavonoids, anthocyanins, betalains, curcumin, and carotenoids: Sources, classification and enhanced stabilization by encapsulation and adsorption. **Food Research International**, v. 153, p. 110929, 2022.

LU, Wang et al. Antioxidant activity and healthy benefits of natural pigments in fruits: A review. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 9, p. 4945, 2021.

MACEDO, Maria Clara Coutinho et al. Elaboration and Characterization of Pereskia aculeate Miller Extracts Obtained from Multiple Ultrasound-Assisted Extraction Conditions. **Metabolites**, v. 13, n. 6, p. 691, 2023.

MONDAL, Sukanta et al. Bioactive compounds in functional food and their role as therapeutics. **Bioactive Compounds in Health and Disease-Online** ISSN: 2574-0334; Print ISSN: 2769-2426, v. 4, n. 3, p. 24-39, 2021.

MUNTEANU, Irina Georgiana; APETREI, Constantin. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 7, p. 3380, 2021.

POTT, Delphine M.; VALLARINO, José G.; OSORIO, Sonia. Metabolite changes during postharvest storage: Effects on fruit quality traits. **Metabolites**, v. 10, n. 5, p. 187, 2020.

SHI, Linghong et al. Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 54, p. 81112-81129, 2022.

SILVA, Henrique; LOPES, Nuno Miguel F. Cardiovascular effects of caffeic acid and its derivatives: a comprehensive review. **Frontiers in physiology**, v. 11, p. 595516, 2020.

SILVEIRA, Joaquim AG et al. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**, v. 1, p. 161-18, 2010.

SOUZA, TCL de. Perfil de compostos fenólicos extraídos de folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia Aculeata* Miller). **Campinas, Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - UNICAMP**, 2014.

TAIZ, Lincoln et al. **Fundamentos de Fisiologia Vegetal-6**. Artmed Editora, 2021.

TOBAR-DELGADO, Elizabeth et al. Rutin: family farming products' extraction sources, industrial applications and current trends in biological activity protection. **Molecules**, v. 28, n. 15, p. 5864, 2023.

XU, Yu et al. Gallic acid and diabetes mellitus: its association with oxidative stress. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7115, 2021.

ZENONI, Sara et al. Disclosing the molecular basis of the postharvest life of berry in different grapevine genotypes. **Plant Physiology**, v. 172, n. 3, p. 1821-1843, 2016.

ZHOU, Xiaochen et al. Metabolism of gallic acid and its distributions in tea (*Camellia sinensis*) plants at the tissue and subcellular levels. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 16, p. 5684, 2020.

ZHU, Wencan et al. Postharvest light-induced flavonoids accumulation in mango (*Mangifera indica* L.) peel is associated with the up-regulation of flavonoids-related and light signal pathway genes. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1136281, 2023.

CAPÍTULO 2

EFEITO DO CONSUMO DE FARINHA DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller) NA SAÚDE DE MULHERES COM SOBREPESO OU OBESIDADE

Ana Carolina BIANCO-GOMES¹, Guilherme CHIABAY-FONSECA², Isadora Bicalho ALMEIDA², Débora Correia SANTANA¹, Tuani Celestino BARBOSA², Dominik LENZ⁵, Hildegardo Seibert FRANÇA⁴, Wanderson ROMÃO⁴, Denise Coutinho ENDRINGER^{3*}.

¹ Universidade Vila Velha; Laboratório de Produtos Naturais. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal.

² Universidade Vila Velha; Laboratório de Produtos Naturais.

⁴ Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Vila Velha.

⁵ In Memoriam.

³ Autor correspondente. Universidade Vila Velha: Complexo Biopráticas - Avenida Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista II, Vila Velha, ES 29102-770, Brasil. denise.endringer@uvv.br

RESUMO:

O sobrepeso e a obesidade são uma doença crônica com grandes impactos econômicos e sociais. Ela pode ser associada ao índice de massa corporal (IMC), de forma que valores de 25kg/m² a 30 kg/m² caracterizam sobrepeso e valores acima deste último caracterizam obesidade. Dentre os fatores contribuintes para a obesidade, mencionam-se os fatores hereditários, sedentarismo, consumo exacerbado de alimentos de alta densidade calórica, entre outros. Muitas plantas têm apresentado potencial funcional no tratamento da obesidade pela redução do apetite, diminuição da absorção de nutrientes, redução da adipogênese e pelo aumento do gasto energético basal. Alguns estudos têm indicado um papel funcional na melhora da composição corporal e perda de peso, entre homens e mulheres que consumiram a Ora-pro-nóbis (OPN). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do consumo de OPN em marcadores bioquímicos e na composição corporal de mulheres com sobrepeso ou obesidade. Para isso, foi proposto um estudo prospectivo, randomizado

em crossover, com pacientes do sexo feminino, entre 18 e 59 anos, com IMC >25. As pacientes foram divididas em dois grupos: CAB (Controle - farinha de couve) e OPN (Teste – farinha de OPN) e receberam a intervenção por 12 semanas, cada. Os parâmetros avaliados foram antropométricos e bioquímicos. O consumo de OPN é encorajado, por se tratar de um alimento com potencial funcional, mas, de forma isolada, não é capaz de favorecer o tratamento da obesidade. Sendo assim, seu consumo deve ser associado à alteração do estilo de vida e intervenções comportamentais.

Palavras-chave: Ora-pro-nóbis; *Pereskia aculeata* Miller; Compostos bioativos; Obesidade feminina; Emagrecimento; Síndrome metabólica

1. INTRODUÇÃO

O sobrepeso e a obesidade são considerados uma doença crônica com grandes impactos econômicos e sociais. Ela pode ser associada ao índice de massa corporal (IMC), de forma que valores de 25kg/m² a 30 kg/m² caracterizam sobrepeso e valores superiores a esse caracterizam obesidade (ANEKWE, et al. 2020). A prevalência global desta doença aumentou consideravelmente nos últimos 40 anos. Entre mulheres, o percentual de obesidade saltou de 6% para 15%, de 1975 a 2016 (JAACKS, et. al, 2019).

Esta doença está associada a vários efeitos adversos cardiovasculares e metabólicos, demonstrando que a obesidade é um problema de saúde pública (DIKAIYOU, et al. 2021). A epidemia da obesidade tem a maior prevalência entre grupos socialmente desfavorecidos, pessoas sub-representadas (minorias étnicas/raciais) e mulheres (ANEKWE, et al., 2020). A fisiopatologia e o manejo do sobrepeso e da obesidade, bem como o acúmulo de gordura visceral nas mulheres apresentam nuances importantes, distintas daquelas dos homens (KAPOOR; FAUBION; KLING, 2019).

Dentre os fatores contribuintes para o sobrepeso e obesidade, mencionam-se os fatores hereditários, como genética, história familiar, raça, etnia, e fatores como a industrialização, sedentarismo e transporte mecanizado, urbanização, tecnologia e a oferta cada vez mais abundante de alimentos de alta densidade energética, contribuindo para o balanço energético positivo (ANEKWE, et al., 2020). Neste contexto, dá-se a importância da promoção e viabilização de hábitos alimentares saudáveis. Muitas plantas têm apresentado potencial funcional no tratamento da obesidade pela redução do apetite, diminuição da absorção de nutrientes, redução da adipogênese e pelo aumento do gasto energético basal (CAO, 2019; YU, et al., 2020; ROMAIN, et al., 2021).

Dentre estas plantas com potencial funcional, encontra-se a Ora-pro-nóbis (OPN), um cacto semi-lenhoso, que apresenta altos percentuais de minerais, como cálcio, magnésio, manganês e zinco, fibras e mucilagens, vitaminas A e C, ácido fólico, flavonoides, como quercetina, ácidos orgânicos, como ácido cafeico, além de proteínas e aminoácidos, como lisina e triptofano (PINTO *et al.*, 2015; SATO *et al.*, 2018; DA SILVA-PORTO *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2016). Até o momento, apenas um estudo comprovou o papel funcional da OPN na melhora da composição corporal e perda de peso, entre mulheres que consumiram a folha, porém, foi desenhado a fim de avaliar o potencial simbiótico da planta, associado a uma bebida probiótica (VIEIRA, et al., 2020). Sendo assim, o objetivo deste estudo é validar o efeito do consumo de Ora-pro-nóbis (OPN) em marcadores bioquímicos e na composição corporal de mulheres com sobrepeso ou obesidade.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

As folhas e farinhas de Ora-pro-nóbis foram utilizadas como objeto de estudo – tratamento, e as folhas e farinhas de couve (*Brassica oleracea*) foram utilizadas como objeto placebo. Farinhas industrializadas de Ora-pro-nóbis (OPN B) e couve (CAB B) foram adquiridas em mercado online, do estado de São Paulo, ambas com laudo e certificação de qualidade. Além das farinhas industrializadas, também foram preparadas farinhas em laboratório, a partir das folhas *in natura* para comparação de

resultados. Para a produção de farinha em laboratório, as folhas de Ora-pro-nóbis (OPN) foram coletadas aleatoriamente em uma propriedade particular do município de Vila Velha (20°21'19,2"S 40°18'43,1"W). Uma exsicata da planta (VIES055007) foi preparada e depositada no herbário da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES/ES). As folhas de couve (CAB) foram adquiridas em comércio local (Vila Velha, Espírito Santo). A farinha OPN (OPN A) e a farinha de couve (CAB A) foram preparadas por meio da secagem total das folhas em estufa ventilada a 105°C, por uma hora. Em seguida, as folhas foram totalmente trituradas no processador de alimentos.

Todos os experimentos foram realizados nos Laboratórios do Complexo Biopráticas da Universidade Vila Velha e no Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), localizados em Vila Velha, Espírito Santo – Brasil.

2.2. Desenho experimental

Os testes de avaliação da composição nutricional e bioativa das farinhas foram organizados seguindo um delineamento inteiramente casualizado para comparar o valor nutricional e a composição fitoquímica de diferentes farinhas nas respostas das variáveis.

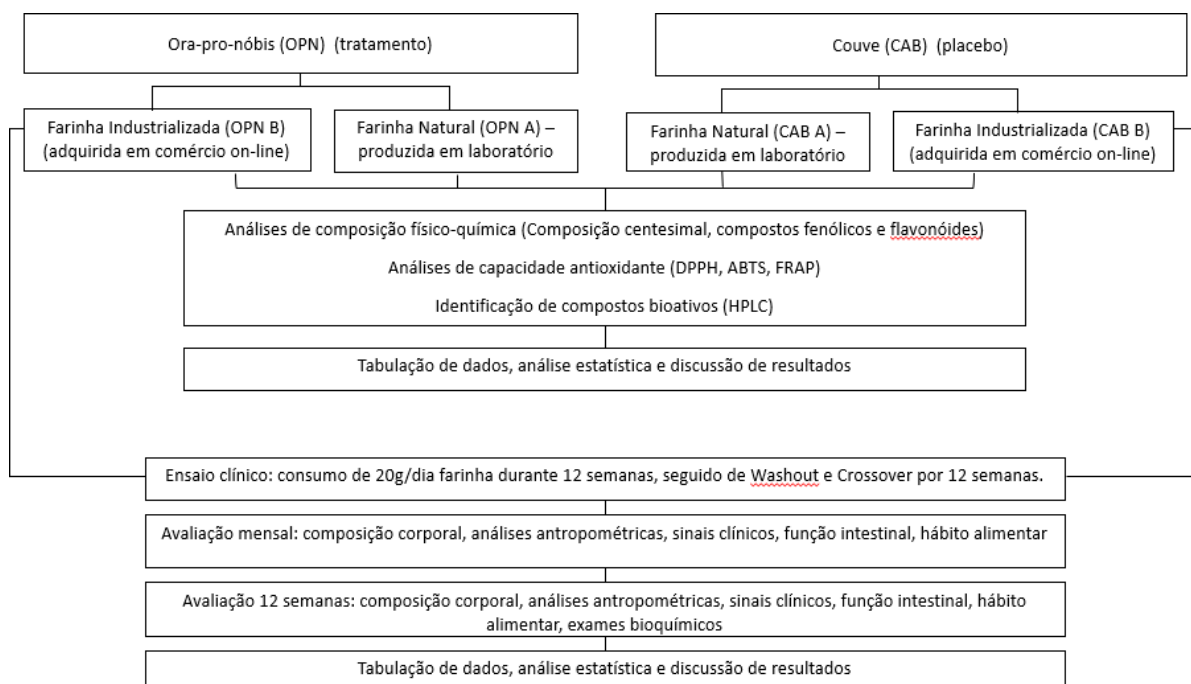


Figura 1. Fluxograma – Desenho experimental

2.3. Composição centesimal

O teor de umidade foi determinado por secagem em estufa a 105°C até peso constante; as cinzas foram obtidas por incineração a 550°C; teor de nitrogênio pelo método Kjeldahl, seguido de conversão do resultado em proteína bruta, utilizando o fator 5,75, referente às proteínas vegetais; lipídios totais pelo método de extração Goldfish; e o teor de carboidratos por diferença (AOAC, 1990, 2002). As calorias (kcal.100 g⁻¹) foram determinadas pelos valores de conversão de Atwater, que considera que 1 g de proteínas corresponde a 4 kcal, assim como carboidratos, enquanto 1 g de lipídios corresponde a 9 kcal (MERRILL e WATT, 1973).

2.4 Preparo do extrato para análises de compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante

1 g da amostra foi macerado com 10 ml de metanol 60%. Em seguida, essa mistura foi colocada em um tubo plástico (Falcon®), centrifugado a 6.000rpm a 5°C por 15 minutos. O sobrenadante foi filtrado e completado até 10 ml com água deionizada (KREPSKY et al., 2012). Todos os procedimentos foram realizados no escuro, os extratos foram cobertos com papel alumínio e armazenados sob refrigeração, protegidos da luz, até a realização das análises.

2.5 Determinação de polifenóis e flavonoides totais

O teor de compostos fenólicos foi realizado conforme Esquivel-Alvarado et al. (2020). Foram pipetados 25 µL de cada extrato em microplaca, seguidos de 10µL de Folin Ciocalteu 10% (Sigma®) e 215µL de Carbonato de Sódio 7,5% (Sigma®). Após três minutos, a absorbância foi lida a 715 nm em espectrofotômetro SpectraMax ® 190. A análise em branco foi realizada com água deionizada em substituição ao extrato. Foi criada uma curva analítica de ácido gálico (Dinâmica Ltda ®), em concentrações de 0,04 – 1 mg/mL. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de amostra de folhas (mg de EAC/1g de amostra de folhas).

O teor de flavonoides totais foi determinado segundo o método colorimétrico com cloreto de alumínio, proposto por Xu e Chang (2007), com modificações. Cada extrato foi diluído com água destilada (1:10). Foram adicionados 180 µL de cada extrato seguido de 15 µL de nitrito de sódio (NaNO₂) 2,5%. Após 6 min, foram adicionados 15 µL de cloreto de alumínio (AlCl₃) (10%), deixando em repouso por 5 min, e em seguida 50 µL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) (0,1M) foram adicionados. Após 10 minutos à temperatura ambiente, a absorbância foi lida a 415 nm. O teor de flavonoides na amostra foi obtido a partir da construção de uma curva analítica (1 – 0,16 mg.mL), utilizando a quercetina como padrão. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de quercetina por 1 mg de amostra de folha (mg QE) (WOISKY; SALATINO, 1998). As análises foram realizadas em triplicata.

2.6 Determinação da atividade antioxidante: Método 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS)

O radical ABTS e persulfato de potássio foram dissolvidos em água destilada até uma concentração final de 7 mM e 2,45 mM, respectivamente. Estas duas soluções foram misturadas e mantidas em repouso no escuro por 16 horas, antes do uso, para produzir o radical ABTS•+. Para o estudo da atividade antioxidante, a solução do radical ABTS foi diluída com etanol 50% até uma absorbância de 1,10 ± 0,02 a 734 nm. Foi utilizada uma curva de concentrações de cada extrato (8 – 27 µg/ml) para calcular a capacidade dos compostos bioativos em eliminar 50% do radical livre ABTS • + (IC₅₀). Foram pipetados 30 µl de cada diluição em uma microplaca e adicionados 270 µl de radical ABTS. Após 6 min, a absorbância foi lida a 734 nm em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise em branco foi realizada com metanol concentrado NEON® (Awika et al., 2003).

2.7 Cromatografia Líquida de alta performance (HPLC)

A análise foi realizada conforme método de AL-TAIE et al. (2018). Para esta análise, os extratos foram produzidos na concentração de 0,25 g/ml. As farinhas foram diluídas em metanol 60%, seguindo o método utilizado para as demais análises. Os extratos foram filtrados em filtros de 2,5 µg. Depois disso, foram injetados 20 µl de

cada amostra no sistema HPLC modelo 1260 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA). Todos os produtos químicos utilizados foram de grau analítico. Os padrões de ácido trifluoroacético (TFA) e ácidos fenólicos foram adquiridos da Sigma - Aldrich (Steinheim, Alemanha). A fase estacionária foi a coluna cromatográfica Phenomenex C-18, tamanho de partícula de 3 µg (100 x 4,6 mm DI). A fase móvel foi o solvente A (ácido trifluoroacético - TFA) 0,1% em água deionizada e solvente B (acetonitrila). O gradiente foi programado para 0% B – 100% B por 10 min. Taxa de fluxo de 1mL/min seguida de UV a 360 nm para flavonóides, 280 nm para polifenóis e 254 nm para um espectro mais amplo.

2.8 Ensaio clínico randomizado: Recrutamento e seleção

O recrutamento ocorreu de forma não obrigatória e voluntária, utilizando divulgação em redes sociais (Instagram e WhatsApp). Foram recrutadas pacientes correspondentes aos critérios de inclusão (sexo feminino, idade entre 18 e 59 anos, diagnosticadas com sobrepeso (IMC >24,9)). As pacientes foram divididas em dois grupos: Controle (C - farinha de couve) e Teste (T – farinha de OPN). Os critérios de exclusão foram: diagnóstico de doença; consumo de suplementos, alimentares, laxantes e antibióticos nos últimos 6 meses; procedimentos cirúrgicos nos últimos 6 meses; vegetarianismo; consumo de remédios ou preparações à base de plantas; reações alérgicas conhecidas aos componentes do produto; e ingestão de probióticos no ano anterior.

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Vila Velha (nº 5.588.684). Todos os voluntários foram informados sobre os objetivos do estudo e só participaram do estudo após leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Este estudo foi registrado no registro brasileiro de ensaios clínicos (testeclinicos.gov.br) como RBR-57c9wnd em 17 de janeiro de 2023.

2.9 Desenho do estudo

Como parte da triagem inicial, as participantes do estudo preencheram um formulário online contendo o TCLE e, após assinarem concordando com todos os aspectos do TCLE, receberam as próximas perguntas. Em seguida, foram realizados os procedimentos relacionados ao estudo, incluindo revisão de todos os critérios de inclusão e exclusão, selecionando, por fim 26 voluntárias. O processo de triagem também incluiu uma revisão de dados, diagnósticos prévios e uso de medicamentos prévios e concomitantes.

O estudo foi desenhado em um teste randomizado, em cross-over, totalizando 24 semanas (sendo 12 semanas para cada tratamento). As participantes foram instruídas a não alterarem os programas de exercícios físicos ou dieta durante o período do estudo e, caso o fizessem, foi solicitado que comunicasse a equipe. Das 26 participantes selecionadas, apenas 20 deram início ao estudo. Destas, 10 foram aleatoriamente designadas para iniciar o estudo no grupo tratamento (20g/dia de farinha de OPN) e outras 10 foram aleatoriamente designadas para iniciar o estudo no grupo controle (20g/dia de farinha de CAB), ao fim de três meses, ocorreu o washout de 2 semanas, seguido do crossover. Não houve diferença entre os grupos controle e tratamento, em relação ao IMC ($p>0,05$). Após o início do estudo, 8 voluntárias desistiram devido indisponibilidade de comparecimento às consultas, 3 foram retiradas devido fator biológico (doença, uso de antibiótico, gravidez, entre outros) e 3 desistiram devido à não aceitação da farinha de OPN, relatando dificuldade no consumo. O estudo foi finalizado com 5 voluntárias, com idades entre 25 a 51 anos, totalizando 10 unidades experimentais.

As voluntárias realizaram exame bioquímico no tempo 0 (antes do consumo), no tempo 3 (após o primeiro tratamento) e no tempo 6 (após o segundo tratamento) do teste. Foram analisados os seguintes parâmetros: Glicemia, Colesterol Total, Colesterol HDL, Colesterol LDL, Ureia, Creatinina, Hemograma, Insulina, Cortisol, IL-6, IL-10, Ferritina, Cálcio, Nfkb (Kappa cadeia leve, Lambda Cadeia Leve, relação Kappa/Lambda). Além disso, foram avaliados recordatório alimentar, consistência e aspecto fecal de acordo com escala de Bristol, antropometria por circunferências (braço, tórax, coxa média, cintura, abdome e quadril) e composição corporal por bioimpedância (Inbody 120). Os dados obtidos foram analisados por teste de normalidade, por ANOVA e dados não paramétricos foram avaliados por Modelos

Lineares Generalizados (GLM). A comparação de médias foi realizada por teste de Duncan, a 5% de probabilidade, em relação às variáveis dependentes mencionadas.

2.10 Randomização

A randomização foi realizada por procedimento baseado em sequência numérica aleatória, por randomização estratificada, levando em consideração o IMC. Cada participante recebeu um código aleatório, que foi alocado a cada tratamento, de forma aleatória em que a média do IMC dos grupos não apresentasse diferença significativa ($p > 0,05$) entre si, por teste *t* de Student.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido ao alto teor de umidade das folhas de CAB e OPN, se tornou inviável a produção e utilização das farinhas oriundas das folhas *in natura* neste estudo. Por isso, foram selecionadas farinhas produzidas a nível industrial para comporem o teste. No que diz respeito à farinha industrial de OPN utilizada neste estudo, a escolha foi realizada levando em consideração laudo de pureza do fornecedor, presença de tabela nutricional em rótulo e análise qualitativa microscópica. Por outro lado, os fornecedores de farinha de CAB não dispunham do laudo de pureza, portanto, para a escolha da farinha utilizada como controle, além da análise qualitativa microscópica, foram realizadas também análises quantitativas de composição centesimal, potencial antioxidante, CFT e FLAV para seleção da melhor opção, conforme tabelas 01 e 02, a seguir.

3.1 Composição centesimal

Todas as farinhas apresentam quantidades distintas de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos ($p < 0,05$) conforme observado na Tabela 1. Tais diferenças já eram esperadas, visto que não apenas os métodos de produção, mas também as estruturas das plantas utilizadas na preparação das farinhas são distintas. A farinha

OPN B, por exemplo, é produzida a partir da planta inteira, incluindo folhas, caule e galhos, enquanto a farinha OPN A, produzida à nível doméstico, foi produzida utilizando apenas as folhas da planta. Tal fator contribuiu para que o conteúdo de cinzas na OPN B seja maior do que nas demais e que o conteúdo proteico de OPN A fosse mais expressivo do que em OPN B.

Tabela 1. Composição centesimal das farinhas de OPN e CAB

Amostra	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídeos (%)	Proteínas (%)	Carboidratos (%)	VCT (%)
CAB 1	6,30± 0,33 ^a	0,47±0,07 ^e	1,71±1,22 ^{bc}	1,67 ± 0,29 ^d	73,11 ± 12,12 ^b	314,54±44,09 ^d
CAB 2	6,67± 0,39 ^a	0,69 ± 0,09 ^e	2,95 ± 0,45 ^a	1,62 ± 0,06 ^d	89,55 ± 1,79 ^a	391,27±6,55 ^a
CAB 3 (LAB)	3,31± 0,25 ^c	9,24 ± 0,22 ^c	0,77 ± 0,30 ^{cd}	24,99 ± 0,56 ^a	61,69 ± 0,64 ^c	353,64±1,51 ^{bc}
CAB 4* (Control)	2,74± 0,14 ^d	1,88±0,33 ^d	0,28±0,03 ^d	0,84± 0,05 ^e	94,25 ± 0,33 ^a	382,88±1,34 ^{ab}
OPN A (LAB)	6,37± 0,04 ^a	10,15±0,11 ^b	2,62±0,18 ^{ab}	21,29 ± 0,26 ^b	59,57 ± 0,36 ^c	347,05±1,18 ^{cd}
OPN B* (Treatment)	4,73± 0,12 ^b	18,99±0,32 ^a	1,85±0,29 ^{abc}	13,53 ± 0,11 ^c	60,91 ± 0,32 ^c	314,37±2,04 ^d

OPN A (farinha de ora-pro-nóbis produzida em laboratório de pesquisa); OPN B (farinha de ora -pro-nóbis comercial – utilizada como tratamento em ensaio clínico); CAB 1 (farinha de couve comercial marca 1); CAB 2 (farinha de couve comercial marca 2); CAB 3 (farinha de couve produzida em laboratório de pesquisa); CAB 4 (farinha de couve comercial – utilizada como tratamento em ensaio clínico). Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste t (post hoc) ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos neste estudo concordam com os resultados apresentados por Ciríaco, et al. (2023), que compararam a composição físico-química de farinhas de OPN produzidas a partir das folhas, dos caules e dos frutos. No estudo citado, o teor de cinzas ($12,38 \pm 0,12$), proteínas ($21,08 \pm 0,56$) e lipídeos ($3,04 \pm 0,21$) se aproximam dos resultados obtidos no presente estudo para a farinha OPN A, produzida no laboratório de pesquisa, utilizando apenas folhas. Os resultados da farinha OPN B não se assemelham aos resultados do estudo citado, uma vez que, não foi produzida apenas a partir de caules, mas da mistura entre caules e folhas. Em resumo, as farinhas de OPN apresentaram as maiores médias de todos os parâmetros avaliados, com exceção de proteínas e carboidratos, cujas maiores médias foram encontradas nas farinhas CAB A e CAB B, respectivamente.

No que diz respeito à composição nutricional das farinhas de couve, observou-se que CAB 3 apresentou as maiores médias, com um teor expressivo de proteínas ($p < 0,05$), correspondendo a quase 25% do seu conteúdo total, enquanto apresentou também o menor teor de carboidratos, se tornando uma boa opção do ponto de vista nutricional. Da Silva (2022) também produziu farinha de couve à nível laboratorial e encontrou valores de 8,58% para umidade, 15,90% para fibras, 4,80% para lipídeos, 20,46% para proteínas e 4,51% para fibras. Os valores encontrados no presente estudo se assemelham ao encontrado pelo autor e as diferenças observadas podem estar relacionadas à diferença de geografia, solo e estação de colheita (POTT; VALLARINO e OSORIO, 2020).

Os resultados da composição centesimal de CAB B estão de acordo com o rótulo do produtor, se assemelhando à composição especificada no rótulo (92g de carboidratos, 1,2g de fibras, 1,2g de proteínas e 0g de gorduras totais). Um estudo avaliou o conteúdo de aminoácidos de couve crua e processada e concluiu que ambas são boas fontes deste nutriente, com uma proporção de 44% de aminoácidos essenciais para folhas frescas e 43% para folhas cozidas (LISIEWSKA; KMIECIK; KORUS, 2008).

As maiores médias de umidade, lipídeos e proteínas foram observadas entre as farinhas CAB 1 e CAB 2 ($p < 0,05$). A farinha CAB 4 apresentou maior conteúdo de cinzas e de carboidratos ($p < 0,05$). O conteúdo de fibras não foi quantificado no presente estudo. Os resultados da composição centesimal de CAB 4 estão de acordo com o rótulo do produtor, se assemelhando à composição especificada no rótulo (92g de carboidratos, 1,2g de fibras, 1,2g de proteínas e 0g de gorduras totais). Raychaudhuri, Samnhita et al. (2021), analisaram o conteúdo nutricional de farinha de couve produzida em forno e encontraram resultados de 4,65% de umidade, 8,71% de proteínas, 73,9% de carboidratos, 1,88% de gordura total e 10,87% de cinzas. Os resultados do presente estudo se assemelham ao estudo de Rigueira *et al.*, (2017) em relação ao teor de umidade e de cinzas, mas se diferem nos demais. No que diz respeito ao potencial na saúde, o estudo de Ayaz et al. (2008) encontrou nove diferentes tipos de ácidos fenólicos: gálico, protocatecuico, p-hidroxibenzóico, vanílico, salicílico, p-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico na couve.

3.2 Atividade antioxidante, teor de polifenóis e flavonóides

O potencial antioxidante, o conteúdo de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais também foram quantificados, a fim de direcionar a escolha da farinha a ser utilizada no controle e no tratamento, para o teste *in vivo*. Dentre as farinhas industrializadas de couve, a CAB 4 apresentou maior média de CFT, FLAV e de potencial antioxidante, conforme apresentada na tabela 2, a seguir. Sendo assim, foi escolhida para ser ofertada no tratamento controle do teste *in vivo*. Até o momento, não foram encontrados estudos que avaliem tais parâmetros em outras farinhas comerciais de couve.

Tabela 2. Comparação do potencial antioxidante (ABTS), quantidade de compostos fenólicos e flavonóides de diferentes farinhas de Couve e Ora-pro-nóbis

Amostra	ABTS IC50% ($\mu\text{g/ml}$)	CFT (mg mEq Ácido Gálico/mg de farinha)	Flavonoides (mg mEq Quercetina/mg de farinha)
CAB 1	$13,66 \pm 0,61^f$	$0,02 \pm 0,00^e$	$0,00 \pm 0,00^e$
CAB 2	$11,34 \pm 0,17^e$	$0,04 \pm 0,00^d$	$0,00 \pm 0,00^e$
CAB 3	$1,02 \pm 0,00^c$	$0,06 \pm 0,00^c$	$0,01 \pm 0,00^d$
CAB 4* (LAB) (Control)	$8,56 \pm 0,30^d$	$0,05 \pm 0,0^d$	$0,13 \pm 0,00^a$
OPN A (LAB)	$0,18 \pm 0,02^a$	$0,12 \pm 0,0^b$	$0,07 \pm 0,00^c$
OPN B (Treatment)	$1,56 \pm 0,14^b$	$1,20 \pm 0,05^a$	$0,12 \pm 0,01^b$

CAB 1: Farinha de couve adquirida em comércio local - fornecedor 01; CAB 2: Farinha de couve adquirida em comércio local - fornecedor 02; CAB 3 (Control): Farinha de couve adquirida em comércio local (fornecedor 3), utilizada como controle em teste *in vivo*; CAB 4 (LAB): Farinha de couve produzida a partir de folhas *in natura*, em laboratório; OPN 1 (Trat): Farinha de Ora-pro-nóbis adquirida em comércio local, utilizada como tratamento no teste *in vivo*; OPN 2: Farinha de Ora-pro-nóbis produzida a partir de folhas *in natura*, em laboratório

LUČIĆ, Dario et al. (2023) quantificaram o teor de CFT em folhas de couve, sendo 4,12 mg/g mEq ác. Gálico. O resultado do presente estudo é superior ao

encontrado pelos autores e tal diferença no resultado pode estar relacionada às diferentes metodologias aplicadas, conforme apresentado por Jaiswal, Abu-Ghannam e Gupta (2012). Estes autores compararam o teor de CFT e FLAV de 3 variedades de couve, em diferentes solventes e métodos de extração e apresentaram maior média (23,6 e 17,5mg mEq/100g amostra, respectivamente) em metanol 60%.

A farinha de OPN selecionada para compor o tratamento do ensaio clínico (OPN B) apresentou alto potencial antioxidante ($IC_{50}=1,56\mu g/ml$) e maior CFT (1,2mg mEq/mg amostra) comparada às demais farinhas. Segundo Boccellino e D'Angelo (2020), os polifenóis são compostos bioativos com potencial para atuar na estimulação da β -oxidação, inibição da diferenciação de adipócitos e neutralização estresse oxidativo, cooperando para o manejo e tratamento da obesidade, a depender da sua biodisponibilidade e da dose consumida.

3.3 Identificação e quantificação de compostos bioativos

Após a avaliação dos resultados de composição centesimal, potencial antioxidante, CFT e FLAV, as farinhas para o ensaio clínico (tratamento e controle) foram selecionadas, a saber: OPN B e CAB 4. Tais farinhas foram submetidas à análise por HPLC para identificação e quantificação de compostos bioativos. Foram identificados os seguintes compostos: ácido gálico, ácido ferúlico e rutina, conforme apresentado na Tabela 3, a seguir:

Tabela 3. Quantificação de compostos bioativos nas farinhas utilizadas no ensaio clínico

Farinhas	Ácido Gálico ($\mu g/mg$)	Ác. Ferúlico (mg/mg)	Rutina (mg/mg)
CAB (Control)	$0,79 \pm 0,36^b$	$0,01 \pm 0,01$	nd
OPN (Treatment)	$1,55 \pm 0,37^a$	nd	$0,29 \pm 0,07$

Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste t (post hoc) ao nível de 5% de probabilidade.

A farinha de OPN selecionada para o tratamento apresentou maior teor de ácido gálico ($p < 0,05$) do que a farinha de couve utilizada para o controle, além disso, também foi observada a presença de 0,29mg/mg de rutina nesta mesma farinha.

O ácido gálico (GA), é um ácido fenólico, comumente encontrado em plantas comestíveis. Devido à sua capacidade de eliminação de radicais livres, ele tem sido aplicado à produtos nutracêuticos, visando potencial regulador da imunidade contra infecções e visando também seu potencial antioxidante, no tratamento ou controle do estresse oxidativo (XU, et al. 2021). É conhecido que o estresse oxidativo está intimamente relacionado à fisiopatologia da obesidade, pois, dentre outros mecanismos, é capaz de alterar a regulação da atividade mitocondrial, promovendo a lipogênese e estimulando a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros (PÉREZ-TORRES, et al. 2021). Neste contexto, Dlodla, et al. (2018) realizaram uma revisão e concluíram que o ácido gálico e seus derivados, são capazes de prevenir complicações as associadas à obesidade e à síndrome metabólica. Os autores relatam que tais benefícios podem ser promovidos por meio de mecanismos que atuam na melhoria da inflamação e do estresse oxidativo a nível celular ou que envolvem a redução do excesso de gordura corporal. Um estudo realizado em humanos pré-obesos comprovou que o consumo extrato de chá preto chinês, contendo 333mg de ácido gálico por dia, durante 12 dias, foi capaz de promover redução da circunferência média da cintura, do índice de massa corporal e dos valores de gordura visceral (KUBOTA, et al. 2011).

A rutina, por sua vez, é um flavonoide importante que é encontrado em diversos alimentos e que possui atividades farmacológicas incluindo ação antioxidante, anti-inflamatória e anti-diabética (MA, et al. 2022). Dois estudos recentes demonstraram, *in vivo*, em ratos, e *in vitro* que o consumo de rutina está relacionado a ativação do tecido adiposo marrom e branco, promovendo aumento da função mitocondrial e termogênese no tecido. O consumo de rutina promoveu aumento na função mitocondrial e no gasto energético, contribuindo sinergicamente para a redução do ganho de peso corporal, diminuindo acúmulo de gordura corporal sendo favorável contra a obesidade e distúrbios metabólicos (YUAN, et al. 2017; MA, et al. 2022). São, contudo, necessários mais estudos para avaliar o efeito antiobesidade da rutina em humanos.

3.4 Ensaio clínico:

3.4.1 Histórico e padrão alimentar

A média de consumo de farinha de OPN foi de 67,28% do total diário proposto, enquanto a média de consumo da farinha de CAB foi de 95,27%. A farinha de OPN apresentou menor aceitação entre as participantes, que relataram fatores negativos como coloração, textura, odor e dificuldade de aplicação nas refeições e receitas.

O histórico alimentar foi avaliado por recordatório alimentar 24h, descontando o valor nutricional das farinhas teste e controle. O valor nutricional médio no tempo zero, anterior ao consumo de OPN, correspondeu a 1871,60kcal, 98,10g de proteínas, 220,10g de carboidratos, 70,20g de lipídeos, 23,03g de fibras e 1800ml de água. Foi observada uma redução média de 474kcal/dia ($p>0,05$) durante o consumo de OPN. No tempo zero anterior ao consumo de CAB, o valor nutricional médio foi de 1610kcal/dia, 99,38g de proteínas, 159,30g de carboidratos, 67,34g de lipídeos, 22,20g de fibras e 1900ml de água. Houve redução de 43kcal/dia durante o consumo de CAB ($p>0,05$), conforme apresentado na tabela 4, a seguir. Não foram observadas diferenças significativas no hábito alimentar durante os tratamentos propostos.

Tabela 4. Comparação do histórico alimentar entre os tratamentos.

RECORDATÓRIO ALIMENTAR	T0 OPN	TRAT OPN	DIFERENÇA T0XTRAT OPN	P-value	T0 CAB	TRAT CAB	DIFERENÇA T0XTRAT CAB	P-value
VET (Kcal)	1871,60	1397,60	-474,00	0,06	1610,20	1567,20	-43,00	0,93
Proteínas (g)	98,10	75,50	-22,60	0,38	99,38	91,40	-7,98	0,79
Carboidratos (g)	220,10	168,32	-51,78	0,22	162,62	159,30	-3,32	0,92
Lipídeos (g)	70,20	50,00	-20,20	0,16	65,58	67,34	+1,76	0,96
Fibras (g)	23,03	15,94	-7,09	0,24	15,58	22,20	+6,62	0,22
Água (ml)	1800	1750	-50,00	0,91	1800,00	1900,00	+100,00	0,81

Resultados obtidos por análise de variância (ANOVA) e teste de Duncan ($P < 0,05$).

Considerando a recomendação nutricional estabelecida pela OMS (WHO, 2023), que preconiza a ingestão de 25 a 30g de fibras por dia, o recordatório alimentar evidenciou que, durante os testes, nenhuma das voluntárias apresentou ingestão adequada deste nutriente. Sabe-se que vegetais folhosos, como CAB e OPN possuem conteúdo importante de fibras alimentares, incluindo fibras solúveis e insolúveis (TAKEITI, et al. 2009; RIGUEIRA, et al. 2017). Neste contexto, a suplementação de OPN pode ter conduzido à diminuição da ingestão calórica, pelo aumento da saciedade promovida pelas fibras alimentares. WU, et al. (2023) relatam que o consumo de fibras solúveis de frutas e certos vegetais aumenta a saciedade e reduz a fome. Segundo estes autores, a saciedade pode ser regulada, após a ingestão alimentar, pela liberação de insulina, de glicose, e de aminoácidos no sangue e a médio prazo, pode ser influenciada pela liberação de hormônios peptídicos intestinais, como GLP-1, colecistocinina, entre outros. Embora não tenha sido observada diferença estatística, a redução de quase 500kcal/dia decorrente do consumo de OPN poderia favorecer o balanço energético negativo, que é um dos fatores associados à perda de peso.

3.4.2 Função intestinal

A consistência fecal é um parâmetro clínico que avalia a função intestinal e é comumente avaliada por meio da escala de Bristol. Esta escala possui 7 pontos, nos quais os pontos 1 e 2 indicam constipação intestinal, pontos 3, 4 e 5 indicam função intestinal adequada e os pontos 6 e 7 indicam fezes amolecidas/diarreicas (LEMAY, et al. 2021). De acordo com este parâmetro, durante o tratamento, apenas 1 paciente apresentou melhora da função intestinal, evoluindo do ponto 1 ao ponto 4 na escala. As demais não apresentavam quadro clínico prévio de constipação crônica, nem de fezes amolecidas ou diarreicas. Estas, por sua vez, mantiveram a consistência fecal usual. Por outro lado, foi observada aumento da frequência de evacuação entre 3 das 5 pacientes, enquanto consumiam OPN e 4 das 5 pacientes, enquanto consumiam CAB. É conhecido que a função intestinal pode ser modulada pela ingestão de líquidos, fibras alimentares e prática de atividade física (WŁODARCZYK, et al. 2021). Levando em consideração que o consumo das farinhas foi capaz de aumentar a ingestão de fibras diárias, tal fator pode ter contribuído para a promoção da função

intestinal, no aumento da frequência de evacuação. Resultado similar foi encontrado por Vieira, et al. (2019) que avaliou o efeito do consumo de OPN na função intestinal. Os autores relataram o potencial prebiótico das folhas, favorecendo a aderência de *L.casei* aos enterócitos e também na melhora de sintomas gastrointestinais.

3.4.3 Dados antropométricos e de composição corporal:

A média dos parâmetros antropométricos e de composição corporal das voluntárias no tempo anterior e posterior a cada tratamento foi apresentada na tabela 5, a seguir. Os tratamentos OPN e CAB não promoveram diferença significativa em nenhum dos parâmetros avaliados.

Tabela 5. Avaliação de dados antropométricos e composição corporal entre os tratamentos.

DADOS ANTROPOMÉTRICOS	T0 OPN	TRAT OPN	DIFERENÇA T0XTRAT OPN	p	T0 CAB	TRAT CAB	DIFERENÇA T0XTRAT CAB	p
Peso (kg)	71,36	71,72	0,36	0,48	73,30	72,80	-0,50	0,91
IMC (kg/m ²)	28,48	28,64	0,16	0,43	30,18	29,26	-0,92	0,69
Massa muscular (kg)	25,62	25,86	0,24	0,65	26,02	26,08	0,06	0,97
%Gordura corporal	35,92	33,14	-2,78	0,29	35,62	34,20	-1,42	0,57
Água corporal (L)	34,00	34,12	0,12	0,84	34,32	34,42	0,10	0,96
Taxa metabólica basal (Kcal)	1369,00	1372,80	3,80	0,83	1378,80	1381,20	2,40	0,97
Proteínas corporais (kg)	9,18	9,24	0,06	0,71	9,30	9,28	-0,02	0,97
Minerais (kg)	3,07	3,09	0,02	0,71	3,13	3,10	-0,03	0,87
Gordura visceral	11,20	11,20	0,00	1,00	12,00	11,60	-0,40	0,80
Circunferência de braço (cm)	31,57	31,10	-0,47	0,12	31,94	31,42	-0,52	0,79

Circunferência de tórax (cm)	97,42	97,50	0,08	0,92	98,10	97,28	-0,82	0,88
Circunferência de cintura (cm)	82,86	83,34	0,48	0,65	84,54	84,70	0,16	0,98
Circunferência de quadril (cm)	104,06	104,60	0,54	0,44	105,72	104,80	-0,92	0,72
Circunferência abdominal (cm)	88,46	89,42	0,96	0,52	90,52	88,56	-1,96	0,68
Circunferência de coxa (cm)	55,62	56,22	0,60	0,59	56,86	55,80	-1,06	0,83
Circunferência de panturrilha (cm)	38,28	37,94	-0,34	0,08	38,56	38,60	0,04	0,98
Relação cintura/quadril (cm)	0,80	0,80	0,00	1,00	0,81	0,80	-0,01	0,85

Resultados obtidos por análise de variância (ANOVA) ou por Modelos Lineares Generalizados (GLM) e teste de Duncan ($P < 0,05$).

Vieira, et. al (2020) promoveram um ensaio clínico que avaliou o efeito do consumo de uma bebida prebiótica enriquecida com OPN nos parâmetros antropométricos de mulheres. Neste estudo, foi observada redução do peso, da circunferência da cintura e porcentagem de gordura corporal. Os autores relacionam este resultado ao teor de fibras, proteínas e compostos fenólicos da farinha de OPN. Em outro estudo publicado em 2019, o consumo de farinha de OPN em cookies não promoveu alteração de parâmetros antropométricos, de composição corporal e bioquímicos (VIEIRA, et al. 2019), assim como no presente estudo.

Probióticos e simbióticos podem atuar na recuperação das “*tight junctions*” entre as células epiteliais, reduzindo a permeabilidade intestinal, evitando a translocação de bactérias e, conseqüentemente, reduzindo a inflamação derivada dos lipopolissacarídeos (LPS). Tal mecanismo favorece o aumento da sensibilidade à insulina, aumentando a saciedade e reduzindo a ingestão calórica (ÁLVAREZ-ARRAÑO; MARTÍN-PELÁEZ, 2021). Levando em consideração os resultados encontrados neste e nos outros dois ensaios clínicos citados, é possível afirmar que o consumo de OPN isolada, sem alteração de estilo de vida, não é capaz de alterar os parâmetros avaliados. Por outro lado, é válido ressaltar que é necessário avaliar o

sinergismo entre ingredientes e compostos bioativos, pois os efeitos dos alimentos funcionais estão relacionados à combinação de ingredientes do produto ofertado.

Outro fator a ser analisado é que a suplementação de OPN, como prebiótico pode ser capaz de favorecer a modulação intestinal, conduzindo à melhora de parâmetros antropométricos e bioquímicos. Neste contexto, são necessários estudos que se proponham a fazer tal avaliação. Outros estudos indicam que simbióticos tem potencial para auxiliar na perda de peso e percentual de gordura corporal, em pacientes com sobrepeso e obesidade (SÁEZ-LARA, 2016; AOUN; DARWISH; HAMOD, 2020; ÁLVAREZ-ARRAÑO; MARTÍN-PELÁEZ, 2021).

3.4.4 Parâmetros bioquímicos:

Foi observado um aumento significativo de cortisol após o consumo de OPN, conforme apresentado na tabela 6. O cortisol é um marcador da resposta humana ao estresse e contribui para a modulação do sistema imunológico, cardiovascular e disponibilidade de energia. Até o momento, sabe-se que o aumento dos níveis de cortisol pode ser observado logo após a ingestão de alimentos ricos em calorias, mas também após longos períodos de jejum, não havendo consenso até o momento, a respeito do seu comportamento em função dos hábitos alimentares, sexo, peso, entre outras variáveis (COLLING, et al. 2023; TARDIO, BALDINI, SEELIG, 2023). Neste contexto, um estudo observou que os níveis de cortisol sanguíneo em homens aumentou quando submetidos à dietas baixas em carboidratos (WHITTAKER; HARRIS, 2022). Levando em consideração que no presente estudo não foi proposta nenhuma intervenção drástica na dieta, incluindo redução calórica e/ou de carboidratos, é possível afirmar que o aumento do cortisol não está relacionado ao stress perceptivo, relacionado à restrição alimentar. Para avaliar clinicamente de forma segura este dado, seriam necessários mais dados para associações com o bem-estar cognitivo e emocional, de forma que, isoladamente, este parâmetro não fornece informações suficientes (JAMES, et al. 2023). Além disso, nota-se que outros parâmetros de stress inflamatório, como IL-6, Relação IL10/IL6, NFKb cadeia kappa leve e relação NFKb cadeia kappa/lambda não se apresentaram alterados.

Tabela 6. Avaliação de dados bioquímicos entre os tratamentos.

DADOS BIOQUÍMICOS	T0 OPN	TRAT OPN	DIFERENÇA T0XTRAT OPN	P-value	T0 CAB	TRAT CAB	DIFERENÇA T0XTRAT CAB	P-value
	4,46	4,44	-0,03	0,76	4,56	4,48	-0,08	0,34
Hemácias	12,76	12,82	+0,06	0,84	13,14	13,10	-0,04	0,93
Hemoglobina	39,02	38,90	-0,12	0,91	39,90	39,62	-0,28	0,78
Hematócrito	87,38	87,72	+0,34	0,64	87,47	88,41	+0,94	0,42
VCM	28,55	28,90	+0,35	0,18	28,80	29,20	+0,41	0,56
HCM	33,28	32,96	-0,33	0,66	32,93	33,04	+0,11	0,80
CHCM	13,30	13,60	+0,30	0,28	13,58	12,92	-0,66	0,35
RDW								
	7,00	6,94	-0,06	0,84	6,90	6,48	-0,42	0,45
Leucócitos	1,66	1,83	+0,16	0,83	1,08	2,20	+1,12	0,16
Bastonetes	47,10	45,10	-2,00	0,10	47,16	44,04	-3,12	0,57
Segmentados	3,18	3,18	0,00	0,94	2,96	3,42	+0,46	0,15
Eosinófilos	0,42	0,68	+0,26	0,13	0,52	0,60	+0,08	0,65
Basófilos	40,60	42,34	+1,74	0,11	40,82	42,90	+2,08	0,66
Típicos	6,10	6,52	+0,42	0,33	6,06	6,92	+0,86	0,35
Monócitos	1,12	1,27	+0,15	0,07	1,24	1,98	+0,74	0,52
Razão Neut/Linfoc	375,60	332,80	-42,80	0,14	340,00	350,40	+10,40	0,64
Plaquetas	10,40	10,60	+0,20	0,43	10,62	10,60	-0,02	0,95
MPV								
	67,46	68,36	+0,90	0,89	68,16	63,00	-5,16	0,77
Ferritina	88,40	103,80	+15,40	0,25	90,40	92,60	+2,20	0,62
Glicose	16,66	32,76	+16,10	0,38	17,50	16,56	-0,94	0,83
Insulina Basal	0,84	0,89	+0,05	0,11	0,85	0,88	+0,04	0,30
Creatinina								
Taxa de Filtração Glomerular	91,32	83,20	-8,12	0,08	86,14	87,74	+1,60	0,71
Nitrogênio ureico	15,60	12,96	-2,64	0,13	12,78	12,32	-0,46	0,86
Ureia	33,40	27,80	-5,60	0,13	27,40	26,40	-1,00	0,77
Calcio Sérico Total	9,08	8,88	-0,20	0,23	8,80	8,84	+0,04	0,88

Colesterol Total	210,60	209,80	-0,80	0,91	214,20	196,00	-18,20	0,04
HDL	53,40	53,00	-0,40	0,93	52,00	51,40	-0,60	0,84
Colesterol não HDL	157,40	156,80	-0,60	0,95	162,20	144,80	-17,40	0,08
LDL	136,80	131,60	-5,20	0,48	136,60	122,40	-14,20	0,13
Cortisol	14,40	19,28	+4,88	0,04	16,52	13,54	-2,98	0,14
Interleucina-6	4,48	3,70	-0,78	0,76	3,68	3,00	-0,68	0,48
Interleucina-10	4,90	4,90	0,00	1,00	4,90	4,90	0,00	1,00
Relação II10/II6	1,70	1,94	+0,23	0,65	1,96	1,90	-0,06	0,64
Kappa Cadeia Leve	313,40	325,60	+12,20	0,17	330,20	311,60	-18,60	0,20
Lambda Cadeia Leve	182,60	201,00	+18,40	0,03	196,40	188,00	-8,40	0,35
Relação Kappa/Lambda	1,74	1,66	-0,08	0,24	1,70	1,66	-0,04	0,18

Resultados obtidos por análise de variância (ANOVA) ou por Modelos Lineares Generalizados (GLM) e teste de Duncan ($P < 0,05$).

A dosagem de colesterol total no plasma sanguíneo se apresentou significativamente diminuída ($p < 0,05$) após o consumo de CAB. Não foram observadas alterações significativas nos demais parâmetros de lipídeos sanguíneos. Estudos em ratos também demonstraram efeitos hipocolesterolêmicos associados à administração de extratos de couve, em diferentes concentrações. Tais resultados foram relacionados à diminuição da expressão gênica da lipogênese hepática, ácido graxo sintase e diminuição da adipogênese (NANNA, et al. 2019; RAYCHAUDHURI, et al. 2021; SHAFI, DHIMAN, MUKHERJEE, 2024).

Não foram observadas outras alterações em parâmetros bioquímicos decorrentes do consumo de OPN. Vale ressaltar, contudo, que não havia um cenário prévio de síndrome metabólica dentre as médias das voluntárias avaliadas e que, durante o estudo, não houve desenvolvimento da mesma. O presente estudo se propôs a testar o efeito do consumo de OPN em dose superior ao publicado por Vieira, et. al. (2019), a fim de avaliar o efeito da dose-resposta do alimento à saúde humana. Desta forma, ressalta-se que, o consumo de alimentos com potencial funcional é de

interesse no tratamento da obesidade, contudo, por se tratar de uma doença multifatorial, são necessárias condutas diversas, incluindo adequação do estilo de vida e intervenções comportamentais para um tratamento efetivo (ELMALEH-SACHS, 2024).

4. CONCLUSÃO

A farinha de OPN apresenta potencial funcional, evidenciado pela ação antioxidante e pela presença de compostos bioativos, como ácido gálico e rutina. Seu consumo não alterou significativamente o padrão alimentar de mulheres com sobrepeso e não foi capaz de alterar significativamente parâmetros antropométricos e bioquímicos avaliados. São necessários mais estudos que avaliem seu potencial como fonte prebiótica em associações simbióticas, na saúde humana. O consumo de OPN é encorajado, por se tratar de um alimento com potencial bioativo e funcional, mas, de forma isolada, não é capaz de favorecer o tratamento da obesidade. Sendo assim seu consumo deve ser associado à alteração do estilo de vida e intervenções comportamentais.

5. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) pela Concessão de bolsa de doutorado, do edital universal e taxa de bancada.

6. REFERÊNCIAS

AL-TAIE, Ghassan Radam Idan et al. A comparative study of the phenolic compounds of some Brassicaceae taxa by High-performance liquid chromatography (HPLC) technique. **Tikrit Journal of Pure Science**, v. 23, n. 2, p. 45-48, 2018.

ÁLVAREZ-ARRAÑO, Valentina; MARTÍN-PELÁEZ, Sandra. Effects of probiotics and synbiotics on weight loss in subjects with overweight or obesity: A systematic review. **Nutrients**, v. 13, n. 10, p. 3627, 2021.

ANEKWE, Chika Vera et al. Socioeconomics of obesity. **Current obesity reports**, v. 9, p. 272-279, 2020.

AOUN, Antoine; DARWISH, Fatima; HAMOD, Natacha. The influence of the gut microbiome on obesity in adults and the role of probiotics, prebiotics, and synbiotics for weight loss. **Preventive nutrition and food science**, v. 25, n. 2, p. 113, 2020.

AYAZ, Faik Ahmet et al. Phenolic acid contents of kale (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala* DC.) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 19-25, 2008..

BOCCCELLINO, Mariarosaria; D'ANGELO, Stefania. Anti-obesity effects of polyphenol intake: Current status and future possibilities. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 16, p. 5642, 2020.

CAO, Shi-Yu et al. Dietary plants, gut microbiota, and obesity: Effects and mechanisms. **Trends in Food Science & Technology**, v. 92, p. 194-204, 2019.

COLLING, Caitlin et al. Changes in serum cortisol levels after 10 days of overfeeding and fasting. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 324, n. 6, p. E506-E513, 2023.

DA SILVA, Geovane Aparecido Ramos et al. Implementação de uma farinha produzida à base de couve manteiga (*Brassica oleracea*) em alimentos salgados para suplementação de fibras alimentícias. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, p. e266111234191-e266111234191, 2022.

DIKAIYOU, Pigi et al. Obesity, overweight and risk for cardiovascular disease and mortality in young women. **European journal of preventive cardiology**, v. 28, n. 12, p. 1351-1359, 2021.

DLUDLA, Phiwayinkosi V. et al. Inflammation and oxidative stress in an obese state and the protective effects of gallic acid. **Nutrients**, v. 11, n. 1, p. 23, 2018.

ELMALEH-SACHS, Arielle et al. Obesity management in adults: a review. **Jama**, v. 330, n. 20, p. 2000-2015, 2023.

JAACKS, Lindsay M. et al. The obesity transition: stages of the global epidemic. **The lancet Diabetes & endocrinology**, v. 7, n. 3, p. 231-240, 2019.

JAISWAL, Amit K.; ABU-GHANNAM, Nissreen; GUPTA, Shilpi. A comparative study on the polyphenolic content, antibacterial activity and antioxidant capacity of different solvent extracts of Brassica oleracea vegetables. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 2, p. 223-231, 2012.

JAMES, Katharine Ann et al. Understanding the relationships between physiological and psychosocial stress, cortisol and cognition. **Frontiers in Endocrinology**, v. 14, p. 1085950, 2023.

KAPOOR, Ekta; FAUBION, Stephanie S.; KLING, Juliana M. Obesity update in women. **Journal of women's health**, v. 28, n. 12, p. 1601-1605, 2019.

KREPSKY, Patricia Baier et al. Chemical composition and vasodilatation induced by Cuphea carthagenensis preparations. **Phytomedicine**, v. 19, n. 11, p. 953-957, 2012.

KUBOTA, Kazumitsu et al. Improvements of mean body mass index and body weight in preobese and overweight Japanese adults with black Chinese tea (Pu-Erh) water extract. **Nutrition Research**, v. 31, n. 6, p. 421-428, 2011.

LEMAY, Danielle G. et al. Technician-scored stool consistency spans the full range of the Bristol scale in a healthy US population and differs by diet and chronic stress load. **The Journal of Nutrition**, v. 151, n. 6, p. 1443-1452, 2021.

LUČIĆ, Dario et al. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Kale (Brassica oleracea L. Var. acephala DC.) and Wild Cabbage (Brassica incana Ten.) Polyphenolic Extracts. **Molecules**, v. 28, n. 4, p. 1840, 2023.

MA, Beibei et al. Rutin promotes white adipose tissue “browning” and brown adipose tissue activation partially through the calmodulin-dependent protein kinase kinase β /AMP-activated protein kinase pathway. **Endocrine Journal**, v. 69, n. 4, p. 385-397, 2022.

MARTINEZ, Anna Paula; AZEVEDO, Gisele Regina de. The Bristol Stool Form Scale: its translation to Portuguese, cultural adaptation and validation. **Revista latino-americana de enfermagem**, v. 20, p. 583-589, 2012.

MERRIL, A.L.; Watt, B.K. **Agriculture handbook**. p.74 (1973)

NANNA, Urarat et al. Effects of Brassica oleracea extract on impaired glucose and lipid homeostasis in high-fat diet-induced obese mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 9, n. 2, p. 80-84, 2019.

PÉREZ-TORRES, Israel et al. Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 4, p. 1786, 2021.

RAYCHAUDHURI, Samnhita et al. Kale supplementation during high fat feeding improves metabolic health in a mouse model of obesity and insulin resistance. **PloS one**, v. 16, n. 8, p. e0256348, 2021.

RIGUEIRA, Geysa Duarte Junger et al. Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 37, n. 2, p. 3-12, 2016.

ROMAIN, Cindy et al. Sixteen weeks of supplementation with a nutritional quantity of a diversity of polyphenols from foodstuff extracts improves the health-related quality of life of overweight and obese volunteers: a randomized, double-blind, parallel clinical trial. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 492, 2021.

SÁEZ-LARA, Maria Jose et al. Effects of probiotics and synbiotics on obesity, insulin resistance syndrome, type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease: a review of human clinical trials. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 6, p. 928, 2016.

SHAFI, Shabnum; DHIMAN, Sunny; MUKHERJEE, Gunjan. Brassica oleracea var. *acephala* of kashmir as a promising candidate for improvement of lipid profile associated with hyperglycemia through in vivo study in male albino rats. In: E3S Web of Conferences. **EDP Sciences**, 2024. p. 02003.

TAKEITI, Cristina Y. et al. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. sup1, p. 148-160, 2009.

TARDIO, Patricia Arroyo; BALDINI, Gabriela; SEELIG, Eleonora. Food-induced cortisol secretion is comparable in lean and obese male subjects. **Endocrine Connections**, v. 12, n. 7, 2023.

TOMIYAMA, A. Janet et al. Low calorie dieting increases cortisol. **Psychosomatic medicine**, v. 72, n. 4, p. 357-364, 2010.

TRAN, Zung Vu; WELTMAN, Arthur. Generalized equation for predicting body density of women from girth measurements. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 21, n. 1, p. 101-104, 1989.

USDA. **National Nutrient Database for Standard Reference Release**. Disponível em: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/2346407/nutrients>. Acesso em: 17 jun. 2024.

VIEIRA, Camilla Ribeiro et al. A beverage containing ora-pro-nobis flour improves intestinal health, weight, and body composition: A double-blind randomized prospective study. **Nutrition**, v. 78, p. 110869, 2020.

VIEIRA, Camilla Ribeiro et al. Effect of *Pereskia aculeata* Miller. in vitro and in overweight humans: A randomized controlled trial. **Journal of food biochemistry**, v. 43, n. 7, p. e12903, 2019.

VIEIRA, C. R. et al. Clinical application of a cocoa and unripe banana flour beverage for overweight women with abdominal obesity: Prospective, double-blinded and randomized clinical trial. **Journal of Food Biochemistry**, e12372, 2017

WHITTAKER, Joseph; HARRIS, Miranda. Low-carbohydrate diets and men's cortisol and testosterone: Systematic review and meta-analysis. **Nutrition and health**, v. 28, n. 4, p. 543-554, 2022.

WŁODARCZYK, Jakub et al. Current overview on clinical management of chronic constipation. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 8, p. 1738, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Carbohydrate intake for adults and children: WHO guideline. **World Health Organization**, 2023.

WU, Simou et al. A new dietary fiber can enhance satiety and reduce postprandial blood glucose in healthy adults: A randomized cross-over trial. **Nutrients**, v. 15, n. 21, p. 4569, 2023.

XU, Yu et al. Gallic acid and diabetes mellitus: its association with oxidative stress. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7115, 2021. YU, Hyung-Seok et al. Inula britannica inhibits

adipogenesis of 3T3-L1 preadipocytes via modulation of mitotic clonal expansion involving ERK 1/2 and Akt signaling pathways. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 3037, 2020.

YUAN, Xiaoxue et al. Rutin ameliorates obesity through brown fat activation. **The FASEB Journal**, v. 31, n. 1, p. 333-345, 2017.

