



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

ALINE DE VASCONCELOS DANIEL

**CARACTERIZAÇÃO DA PANC ORA-PRO-NÓBIS: COMPOSIÇÃO
BROMATOLÓGICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO***



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

ALINE DE VASCONCELOS DANIEL

**CARACTERIZAÇÃO DA PANC ORA-PRO-NÓBIS: COMPOSIÇÃO
BROMATOLÓGICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO***

Dissertação, apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestrado – Área de concentração: Ciência Animal.

Orientador: Dra Marilice Zundt Astolphi

Presidente Prudente - SP
2022

636.089
D184c Daniel, Aline de Vasconcelos.
Caracterização da PANC ora-pro-nóbis: composição bromatológica, atividade antioxidante e digestibilidade *in vitro* / Aline de Vasconcelos Daniel. – Presidente Prudente, 2022.
64f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2022.
Bibliografia.
Orientador: Dra. Marilice Zundt Astolphi

1. Ora-pro-nóbis. 2. Pereskia aculeta Miller. 3. Digestibilidade. I. Título.

Catálogo na fonte: Michele Mogni – CRB 8-6204

ALINE DE VASCONCELOS DANIEL

**CARACTERIZAÇÃO DA PANC ORA-PRO-NÓBIS: COMPOSIÇÃO
BROMATOLÓGICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DIGESTIBILIDADE *IN VITRO***

Dissertação apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre - Área de Concentração: Ciência Animal.

Presidente Prudente, 15 de março de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Orientadora Marilice Zundt
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Profa. Dra. Sabrina Alves Lenquiste
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Profa. Dra. Fabíola C. de Almeida Rego
Universidade do Norte do Paraná – UNOPAR
Londrina-PR

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos, Theo e Rafael. Obrigada pela companhia, paciência, torcida e planos traçados juntos. Eles acompanharam todo o processo de estudo da mamãe e compreendendo o valor do estudo como formação do ser.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida.

À minha família pelo incentivo, apoio, em especial ao meu avô Professor Antonio Sobral de Vasconcelos exemplo de sabedoria e disciplina.

À professora Sabrina pelos ensinamentos, amizade e confiança. Tenho imensa gratidão pela oportunidade concedido dentro da instituição de ensino UNOESTE.

À minha orientadora, professora Marilice, pela amizade, sugestões, o valioso apoio na realização das análises laboratoriais, enfim, por estar presente em todas as etapas desse caminho.

À Viviane por estar sempre disposta a auxiliar nas técnicas laboratoriais.

À Letícia, doutoranda, por me socorrer nos momentos de maior sufoco e insegurança e me manter no caminho correto para realização deste trabalho.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (Brasil) CAPES – Código de Financiamento 001”.

“Que seu remédio seja seu alimento, e que
seu alimento seja seu remédio”.

(Hipócrates)

RESUMO

Caracterização da PANC Ora-pro-nóbis: composição bromatológica, atividade antioxidante e digestibilidade *in vitro*

A ora-pro-nóbis, *Pereskia aculeata* Miller é uma planta alimentícia não convencional de fácil cultivo agrônômico e com boa resistência à falta de água, sendo recomendada para vários tipos de clima e solo. O objetivo desse trabalho é avaliar a composição bromatológica, digestibilidade, compostos bioativos e atividade antioxidante comparando a fase de crescimento e partes da planta com melhor aplicação na suplementação alimentar e determinar a diminuição dos componentes nutricionais com o tempo de plantio. O maior teor de proteína bruta está nas folhas da planta adulta (23,25%), porém a planta inteira e a folha da planta jovem também apresentou alto conteúdo proteico. No caule encontrou-se maior teores de fibras, aumentando de acordo com a idade da planta. Encontrou-se alto conteúdo de matéria mineral onde o tempo de plantio influencia diretamente no teor de macro e microminerais, tanto nas folhas como também na planta inteira jovem, que mostrou-se excelente fonte de Fe, Mg, P, S e Zn enquanto o K, Mn, Ca, B, e Cu estão predominantemente nas folhas. A fase de crescimento da planta não reduz o teor de compostos bioativos, garantindo sua capacidade antioxidante, FRAP (12,24 μM Trolox g^{-1}) e ABTS (12,04 μM Trolox g^{-1}) e efeitos protetores a saúde. A digestibilidade *in vitro* é de 68,85% demonstrando que essa PANC pode ser utilizada como suplementação alimentar tanto humana como em animais ruminantes.

Palavras-chave: Ora-pro-nóbis, planta alimentícia não convencional, *Pereskia aculeata* Miller, compostos bioativos, digestibilidade.

ABSTRACT

Characterization of Ora-pro-nóbis PANC: chemical composition, antioxidant activity and in vitro digestibility

The ora-pro-nóbis, *Pereskia aculeata* Miller is an unconventional food plant of easy agronomic cultivation and with good resistance to lack of water, being recommended for various types of climate and soil. The objective of this work is to evaluate the chemical composition, digestibility, bioactive compounds and antioxidant activity comparing the growth phase and parts of the plant with the best application in food supplementation and to determine the decrease of the nutritional components with the planting time. The highest crude protein content is in the leaves of the adult plant, 23.25%, but the whole plant and the leaf of the young plant also had a high protein content. Higher fiber content was found in the stem, increasing according to the age of the plant. A high content of mineral matter was found where the time of planting directly influences the content of macro and microminerals, both in the leaves and in the whole young plant, which proved to be an excellent source of Fe, Mg, P, S and Zn while the K, Mn, Ca, B, and Cu are predominantly in the leaves. The plant growth phase does not reduce the content of bioactive compounds, ensuring its antioxidant capacity, FRAP 12.24 μM Trolox g⁻¹ and ABTS 12.04 μM Trolox g⁻¹ and protective health effects. The in vitro digestibility is 68.85%, demonstrating that this PANC can be used as a food supplement for both humans and ruminant animals.

Keywords: Ora-pro-nóbis, unconventional food plant, *Pereskia aculeata* Miller, bioactive compounds, digestibility.

LISTA DE SIGLAS

ABTS+	- ((2,2-azino-bis(ethylbenzothiazoline6sulfonic acid))
ASE	- Amostra seca em estufa
DCNT	- Doenças crônicas não transmissíveis
DIVMS	- Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
FRAP	- Ferric Ion Reducing Antioxidant Parameter
OPN	- Ora-pro-nóbis
PANC	- Planta alimentícia não convencional
PAM	- <i>Pereskia aculeata</i> Miller

SUMÁRIO

1 ARTIGO -	CARACTERIZAÇÃO DA PANC ORA-PRO-NÓBIS: COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA, COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i>	13
2 ARTIGO -	CARACTERIZAÇÃO DA PANC ORA-PRO-NÓBIS: COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DIGESTIBILIDADE RUMINAL <i>IN VITRO</i> ...	32
ANEXO A -	INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA RESEARCH JOURNAL OF PHARMACEUTICAL, BIOLOGICAL AND CHEMICAL SCIENCES.....	57
ANEXO B -	INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA CIÊNCIA RURAL.....	61

1 ARTIGO

CARACTERIZAÇÃO DA PANC ORA-PRO-NÓBIS: COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA, COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

CHARACTERIZATION OF ORA-PRO-NÓBIS PANC: BROMATOLOGICAL COMPOSITION, BIOACTIVE COMPOUNDS AND *IN VITRO* ANTIOXIDANT ACTIVITY

Resumo

A ora-pro-nóbis, *Pereskia aculeata Miller* é uma planta alimentícia não convencional de fácil cultivo agrônômico e com boa resistência à falta de água, sendo recomendada para vários tipos de clima e solo. O objetivo desse trabalho é avaliar a composição bromatológica, digestibilidade, compostos bioativos e atividade antioxidante comparando a fase de crescimento e partes da planta com melhor aplicação na suplementação alimentar. O maior teor de proteína bruta está nas folhas da planta adulta (23,25%), porém a planta inteira e a folha da planta jovem também apresentou alto conteúdo proteico. No caule encontrou-se maior teores de fibras, aumentando de acordo com a idade da planta. Encontrou-se alto conteúdo de matéria mineral onde o tempo de plantio influencia diretamente no teor de macro e microminerais, tanto nas folhas como também na planta inteira jovem, que mostrou-se excelente fonte de Fe, Mg, P, S e Zn enquanto o K, Mn, Ca, B, e Cu estão predominantemente nas folhas. A fase de crescimento da planta não reduz o teor de compostos bioativos, garantindo sua capacidade antioxidante e efeito funcional, podendo ser utilizada na suplementação alimentar humana.

Palavras-chave: ora-pro-nóbis, planta alimentícia não convencional, *Pereskia aculeata Miller*, compostos bioativos.

1. Introdução

O Brasil apresenta, devido a sua extensão territorial, uma grande biodiversidade de espécies vegetais com propriedades relevantes tanto para a saúde humana, como animal. Um exemplo é a *Pereskia aculeata Miller* (PAM), considerada como uma planta alimentícia não convencional (PANC). Segundo Kinupp (2009) [1] as PANC's são plantas com distribuição limitada, restrita à determinadas regiões, não cultivadas, compõe a uma cultura culinária

regional e normalmente, não são comercializadas ou tem seu uso amplamente divulgado pelas empresas do setor agropecuário.

Nos últimos anos em função de alguns trabalhos de pesquisa, as PANC's ganharam a atenção dos pesquisadores e se mostram como alternativa para aproveitamento alimentício, sendo importante nutricionalmente e economicamente, em função do custo baixo de implantação. A *Pereskia aculeata* Miller é conhecida como ora-pro-nóbis (OPN), do latim *rogai por nós* ou ainda como: rosa-madeira, jumbeba, groselha de barbados, groselha das Américas, guaiapá (nome indígena que significa fruta com espinhos), trepadeira limão e popularmente como "carne de pobre", é uma planta perene da América tropical. A espécie pertence à família *Cactaceae* e a subfamília *Pereskioideae*. Em solo brasileiro, o cultivo se estende da Bahia até o Rio Grande do Sul. [2] [3]

Vários autores destacam que o cultivo da ora-pro-nóbis [4] [5] é relativamente simples, produtividade elevada, fácil propagação e boa adaptabilidade nos diferentes solos e climas, baixa incidência de doenças e a baixa demanda de água e fertilização. Possui proteínas que podem ser comparadas ou até utilizadas como substitutos da carne [6], sendo que as pesquisas [7] relatam alto valor nutricional das folhas de ora-pro-nóbis, com níveis protéicos superiores a 25%.

De acordo com a RDC No. 54/2012 [8], a Ora-pro-nóbis pode ser considerada um alimento de alto valor nutricional em função da elevada porcentagem protéica, aproximadamente 25%, digestibilidade 80% e excelentes valores de minerais, 3,35g/100g de cálcio, 2,42g/100g de potássio, 1,13g/100g de fósforo, 0,45g/100g de 4 magnésio 0,98g/100g de enxofre, ferro nas folhas de 140,36 ppm e ferro no caule de 88,75 ppm. [9]

A incorporação de ora-pro-nóbis em produtos alimentícios pode ser uma estratégia saudável e de baixo custo para melhorar a ingestão de nutrientes e promover a exploração de novos alimentos no mercado. A utilização de OPN desidratado para elaboração de massas de macarrão tipo talharim em diferentes concentrações (10 e 20%) elevou os teores de proteínas, fibras e cinzas em relação ao macarrão convencional. A formulação contendo 10% de farinha de OPN mostrou excelentes parâmetros em relação a qualidade de cozimento, diminui a firmeza na massa enriquecida, o produto foi aprovado na avaliação sensorial com índice de aceitabilidade foi de 80% pelos potenciais consumidores. [10]

Em estudo que avaliou a composição bromatológica de uma bebida formulada com suco de laranja e farinha de folha seca de OPN foi demonstrado resultados com maior teor de proteínas em relação ao suco puro; porém sucos preparados com farinha de folhas mais caules secos apresentaram melhor teor de fibras, enquanto o suco natural apresentou os menores valores calóricos totais, no entanto os sucos mistos apresentaram resultados satisfatórios para os minerais fósforo, sódio, potássio, magnésio, cálcio, cobre, ferro e manganês. [11]

Souza e colaboradores (2014) [3] relataram que as folhas de *Pereskia aculeata* se mostraram fonte potencial de compostos antioxidantes. Os extratos em acetona 80% e etanol 70% apresentaram melhores resultados que a água para as análises de fenóis totais, proantocianidinas e sequestro de radical DPPH. O tratamento da planta pós-colheita (seca *in natura*, liofilizada e cozida e seca) influencia tanto no teor de compostos fenólicos, apresentando-se maior nas folhas liofilizadas, como no índice de nitratos, apresentando-se maior nas folhas secas *in natura*.

Por se tratar de uma planta de com grande apelo nutricional e de fácil cultivo agrônomico, se desenvolvendo com facilidade em diversos tipos de clima, este estudo tem por objetivo avaliar na região de Presidente Prudente, as características bromatológicas e compostos bioativos da ora-pro-nóbis e sua atividade antioxidante *in vitro* nas folhas, caule e planta inteira considerando diferentes fase de crescimento para suplementação humana.

2. Material e métodos

2.1 Local, plantio e colheita da Ora-pro-nóbis

O plantio da Ora-pro-nóbis (OPN), foi realizado no final de 2019, no setor de plantas medicinais, localizado no campus 2, da UNOESTE, Presidente Prudente – SP.

As plantas matrizes foram cultivadas com espaçamento usual de 0,6 m entre elas, caracterizadas como banco de germoplasmas e não uma plantação comercial. Foram realizadas colheitas manuais, com aproximadamente 12 meses de idade, do setor de plantas medicinais, sendo consideradas plantas jovens de acordo com sua fase de crescimento e plantas com aproximadamente 5 anos de idade no setor de hortas, também da UNOESTE, sendo consideradas plantas adultas, sempre no período da manhã, descartando-se folhas de cada matriz apresentando danos físicos ou causados por doenças ou pragas, sendo que as folhas de cada matriz foram coletadas manualmente, separando as plantas em 6 amostras a planta inteira adulta, planta inteira jovem, somente o caule adulto, caule jovem, somente

folhas adultas e folhas novas, homogeneizadas e posteriormente encaminhadas ao laboratório para a pré secagem em estufa à 55 °C por um período de 72 horas.

Após pré-secagem, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneira de 1mm para obtenção de um farelo, sendo então armazenadas ao abrigo da luz para posteriores análises.

2.2 Análise bromatológica da OPN

Após pré-secagem, a amostra foi triturada para obtenção de um farelo e encaminhada para análise de matéria seca (MS), em estufa a 105°C. A matéria seca foi determinada pela metodologia AOAC (950.46), para matéria mineral foi utilizada a incineração a 525°C (920.152), proteína bruta pela determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldal (920.152), os lipídeos por Soxhlet (963.15), sendo realizadas as análises em triplicata para cada amostra e a fibra bruta em duplicata para cada amostra (993.21), os carboidratos totais foram determinados por meio de cálculo. [12] As análises de lignina, em triplicata para cada amostra, foram realizadas de acordo com o método descrito por Van Soest *et al.* (1991). A densidade energética foi determinada por meio de cálculo nutricional, considerando os seguintes valores energéticos: proteínas 4Kcal/g, lipídeos 9Kcal/g, carboidratos 4Kcal/g.

As amostras foram encaminhadas ao laboratório certificado de Nutrição de Plantas da UNOESTE Presidente Prudente, onde foram realizadas as análises de macro e micro minerais por espectrofotometria de absorção atômica seguindo metodologia de análise descrita por Malavolta *et al.* (1997). [13]

2.3 Determinação da concentração de carotenóides

Na determinação dos carotenóides foi utilizada a metodologia desenvolvida por Nagata e Yamashita (1992), em uma diluição 1:20, utilizando como solvente a acetona-hexano (4:6) e após a extração foram realizadas as leituras das absorbâncias, em triplicata para cada amostra, onde através das equações matemáticas abaixo calculamos por diferenças de absorbâncias o teor de clorofila A, clorofila B, licopeno e betacaroteno. [14]

$$\text{Clorofila A (mg 100ml}^{-1}\text{)} = (0.999A_{663} - 0.0989A_{645}) * 20$$

$$\text{Clorofila B (mg 100ml}^{-1}\text{)} = (-0.328A_{663} + 1.77A_{645}) * 20$$

$$\text{Licopeno (mg 100ml}^{-1}\text{)} = (-0.0458A_{663} + 0.0204A_{645} + 0.372A_{505} - 0.0806A_{453}) * 20$$

$$\text{Betacaroteno (mg 100ml}^{-1}) = (0.216A_{663} - 1.22A_{645} + 0.304A_{505} + 0.452A_{453}) * 20$$

2.4 Determinação dos compostos fenólicos e flavonóides totais da OPN

A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada no Laboratório de Nutrição da Unoeste, utilizando quatro solventes extratores diferentes com fator de diluição 1:50. O extrato etanólico 96%, obtido pela adição de 25,00 mL de álcool etílico 99,5% em tubos de ensaio contendo 0,50 g de amostra, onde a mistura permaneceu em repouso por 48 horas protegida da luz e posteriormente foram filtrados. O extrato etanólico 70% composto por 70% de etanol em água destilada, e o extrato metanólico 30% composto por 30% de metanol em água destilada, onde os frascos foram tampados e agitados por 2 h a 220 rpm, em temperatura ambiente e protegido de luz, este procedimento foi repetido por três ciclos. O extrato aquoso onde amostras trituradas de OPN (1g) foram homogeneizadas em 50 mL de cloreto de sódio (50 mM) sendo agitados manualmente a cada 10 minutos à 75°C por 1 hora.

A concentração de compostos fenólicos totais foram determinadas segundo o método de Folin-Ciocalteu baseado na reação colorimétrica de oxidação/redução dos fenóis em triplicata para cada amostra,. Os resultados foram calculados com base na curva de calibração de ácido gálico e expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g. [15]

O conteúdo total de flavonóides foi determinado usando o método de Dowd adaptado, baseado na reação do cloreto de alumínio em uma solução de metanol. Foi utilizada uma curva padrão de catequina com sete pontos de concentrações (5, 10, 25, 50, 100, 150 e 200 µg/ mL). O conteúdo total de flavonóides foi expresso como mg de equivalentes de catequina por g. [16]

2.5 Determinação do potencial antioxidante da OPN

O potencial antioxidante foi determinado pelos ensaios de FRAP e ABTS, os quais mensuram o efeito do composto sobre diferentes radicais e processos oxidativos no extrato etanólico 1:50, em triplicata para cada amostra.

A capacidade de redução do ferro do extrato de OPN foi avaliada por meio do método FRAP. Para o ensaio são utilizadas as seguintes soluções: cloreto férrico 5,4% em água; ácido clorídrico (HCl) 40mM; tampão acetato 0,3M; e 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10mM. A partir destas soluções o reagente FRAP (1:1:10 / TPTZ: ClFe₃:Tampão) é preparado no dia da

análise e deve ser mantido distante da luz. Para o ensaio são obtidas alíquotas da amostra, água destilada e reagente FRAP, na proporção de 1:3:30, mantidos em banho-maria por 30 minutos a 37°C e em seguida é feita a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 593nm. A curva padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) foi preparada com sete pontos de concentrações (5, 10, 25, 50, 100, 200 e 400 µg/ mL) µmol TE e será utilizada para calcular a capacidade antioxidante da OPN por meio de regressão linear. O resultado foi expresso em µmol TE (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) / g. [17]

O método ABTS⁺ se caracteriza por mensurar a captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS⁺), que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. Com essa metodologia, pode-se determinar a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica. O radical ABTS⁺ foi preparado a partir da mistura da solução estoque do radical com uma solução de persulfato de potássio 140mM e álcool etílico. A solução do radical ABTS⁺ deve permanecer por 16h em repouso, protegida da luz, antes de ser utilizada. A absorbância foi medida em espectrofotômetro em comprimento de onda de 734 nm, no tempo de 7 minutos, de acordo com o descrito no método. A curva padrão de Trolox foi preparada com concentrações de 100 a 1500 µmol TE e foi utilizada para calcular a capacidade antioxidante da OPN por meio de regressão linear. [18]

2.7 Análise estatística e apresentação dos resultados

Os resultados foram apresentados como média ± desvio-padrão entre todas as aferições. Foi utilizado o método de análise de variância, ANOVA, para avaliar os resultados obtidos, sendo considerados estatisticamente diferentes aqueles que apresentaram nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$), foi utilizado o teste de Tukey para comparação de médias e Shapiro Wilk para normalidade. Para todas as análises foi utilizado o software GraphPad Prism 9.0.

3 Resultados e discussão

Os resultados encontrados para composição bromatológica de amostras de ora-próno-bis (**Tabela 1**) mostram resultados significativos para todas as análises. Sua comparação com outros resultados foi difícil, pois os estudos sobre o potencial nutricional dessa espécie são escassos.

Tabela 1. Composição bromatológica de ora-pro-nóbis diferentes fases de crescimento e partes da planta.

	PA	PJ	CA	CJ	FA	FJ	P
Proteínas (%)	13,38 ^d ±0,08	16,91 ^c ± 0,56	8,25 ^c ± 0,42	7,45 ^e ± 0,17	23,25 ^a ± 0,78	19,82 ^b ± 0,03	<0,0001
Lipídeos (%)	2,76 ^d ± 0,05	2,89 ^c ± 0,21	1,26 ^e ± 0,09	0,87 ^e ± 0,03	4,40 ^a ± 0,06	3,87 ^b ± 0,16	<0,0001
Fibra bruta (%)	29,95 ^c ± 0,39	17,69 ^d ± 0,13	44,59 ^a ± 0,53	33,64 ^b ± 1,46	11,36 ^e ± 0,81	10,40 ^e ± 0,05	<0,0001
Lignina (%)	26,06 ^b ±2,90	15,69 ^{bc} ± 2,82	42,14 ^a ± 9,00	23,22 ^b ± 2,97	8,83 ^c ± 2,68	7,30 ^c ± 0,32	<0,0001
Hemicelulose (%)	26,21 ^b ±2,60	38,93 ^a ±3,48	18,11 ^{b±} 2,10	28,76 ^{ba} ± 3,95	24,29 ^b ± 0,35	27,21 ^{ba} ± 3,64	0,0060
Cinzas (%)	15,40 ^{cb} ±2,16	22,25 ^a ± 3,06	11,70 ^c ± 1,99	11,64 ^c ± 1,35	20,26 ^{ab} ± 1,62	22,83 ^a ± 1,63	<0,0001
Carboidratos totais (%)	38,51	40,26	34,20	46,40	40,73	43,08	
Densidade energética Kcal/100g	2,32	2,55	1,81	2,23	2,96	2,86	

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Carboidratos totais obtidos por diferença.. Densidade energética calculada. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA ($p < 0,05$).

Folhas da OPN na maior fase de crescimento apresentaram o melhor teor de proteína encontrado (23,25%). Resultado maior que o encontrado por Trentin et al. (2020) [19] 18,29% e Martins et al. (2017) 17,07% [20], compatível com Maciel et al. (2021) [21] 21,81% e menor que os 35,29 % encontrado por Carvalho et al. (2019) [9], o que demonstra uma alta qualidade proteica em folhas de OPN cultivadas na região de Presidente Prudente. A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 54/2012 [8] determina que, para um alimento ser considerado fonte de proteína deverá ter no mínimo 6% de proteína, e se possuir 12% de proteína poderá ser considerado de alto valor proteico. Todas as amostras da planta são consideradas como fonte de proteína, a planta inteira e as folhas são consideradas de alto valor proteico.

Kinupp & Barros (2008) [22], avaliaram 69 espécies botânicas com potencial alimentício, considerando a *Pereskia aculeata* Mill. como a hortaliça não convencional altamente rica em proteína foliar, em relação a outras espécies - *Urticaceae*: *Boehmeria caudata* e *Phenax uliginosus* (ambas com 24,15%); *Urera aurantiaca* (20,7%); *U. baccifera* (23%); *U. nitida* (19,55%) e *Urtica circularis* (28%), *Coronopus didymus* (28,17%), *Erechtites valerianifolius* (23%), *Solanum americanum* (29,9%), palmito de *Typha*

domingensis (16%) – comparáveis também a espécies convencionais - mostarda (28,57%), catalonha (25%), espinafre (33,33%) e palmito de pupunha (18,18%).

Um aspecto positivo das plantas do gênero *Pereskia* é a baixa quantidade de lipídios, podendo ser utilizadas em dietas hipocalóricas e com restrição de lipídeos [23] o que podemos evidenciar nos resultados da **Tabela 1** através do cálculo de densidade energética.

As fibras insolúveis permanecem intactas através de todo o trato gastrointestinal, compreendendo a lignina, a celulose e a hemicelulose. [24] De acordo com Assis (2021) a parede celular das plantas modifica-se gradualmente de acordo com a maturidade das plantas podendo esta porção tornar-se mais espessa e impregnada por lignina [25], o que podemos observar na **Tabela 1** onde o maior teor de lignina encontra-se no caule adulto (42,14%). Como funções funcionais das fibras estão o incremento do bolo fecal e estímulo da motilidade intestinal, maior necessidade de mastigação, o aumento da excreção de ácidos biliares e propriedades hipocolesterolêmicas. [26]

O teor de cinzas em plantas do gênero *Pereskia* merece destaque por sua magnitude. Altos teores de cinzas indicam a presença de minerais que são importantes no metabolismo do organismo. Entre plantas alimentícias não convencionais, em diversas partes das plantas, não foi encontrado teor de cinzas mais elevado que as cactáceas estudadas. [22]

As maiores porcentagens de matéria mineral ou cinzas ($P < 0,05$) foram verificadas na folha jovem (22,83%). A composição da planta pode variar de acordo com a região do cultivo, devido a diferenças climáticas e geográficas, além da qualidade do solo, isso pode ser comprovado pelas diferenças quando se faz comparação com outros estudos, observando variação de MM de 0,96% Barreira et al. (2021) [27] a 45,05% por Carvalho et al. (2019) [9]. A partir da matéria mineral foram realizadas as análises de macro e microminerais as quais podem ser verificadas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Composição de macrominerais e microminerais de ora-pro-nóbis diferentes fases de crescimento e partes da planta.

	PA	PJ	CA	CJ	FA	FJ	P
Macrominerais (mg 100g ⁻¹)							
Ca	1863,3 ^{cd} ±2,79	2906,6 ^{cb} ± 1,18	736,67 ^d ±0,72	1203,33 ^d ± 4,88	4146,67 ^a ± 4,20	3666,67 ^{ab} ± 7,58	<0,0001
P	180,67 ^c ±0,12	397,67 ^a ± 0,13	168,00 ^c ±0,04	295,33 ^b ± 0,93	180,67 ^c ± 0,12	407,00 ^a ± 0,18	<0,0001
S	130,00 ^c ±0,10	270,00 ^a ± 0,10	113,33 ^c ±0,06	290,00 ^a ± 0,10	240,00 ^b ± 0,10	266,67 ^a ± 0,06	<0,0001
K	1900,00 ±5,39	2250,00 ± 3,51	1853,33 ±1,03	1783,33 ± 6,43	3396,67 ± 3,80	3290 ± 10,52	0,0130
Mg	386,67 ^c ±0,65	876,67 ^b ± 0,32	73,33 ^d ±0,15	116,67 ^d ± 0,51	1123,33 ^a ± 1,19	1080,00 ^a ± 0,36	<0,0001
Microminerais (mg 100g ⁻¹)							
B	3,30 ^d ±1,00	4,25 ^c ± 1,00	2,40 ^f ±1,00	1,60 ^e ± 0,50	6,47 ^b ± 3,33	7,25 ^a ± 2,00	<0,0001
Cu	2,37 ^c ±1,90	3,60 ^{ac} ± 2,25	2,29 ^c ±1,53	2,74 ^c ± 5,25	5,09 ^{ab} ± 16,40	4,33 ^{cb} ± 10,94	0,0075
Fe	23,72 ^{ba} ±30,20	27,81 ^{ba} ± 24,56	10,35 ^b ±12,90	20,75 ^{ba} ± 31,65	24,30 ^{ba} ± 73,75	33,31 ^a ± 49,78	<0,0197
Mn	0,97 ^c ±1,31	2,20 ^b ± 0,75	1,25 ^c ±0,36	1,25 ^c ± 0,35	3,34 ^a ± 1,82	2,47 ^b ± 2,01	<0,0001
Zn	1,71 ^c ±5,39	3,94 ^a ± 5,67	1,84 ^c ±2,01	2,09 ^{cb} ± 4,21	3,75 ^a ± 8,71	3,48 ^{ab} ± 2,31	<0,0003

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA ($p < 0,05$).

Os maiores teores de fósforo (P) foram verificados nas plantas com tempo de crescimento menor ($P < 0,05$) quando comparado com a planta adulta. Segundo Grant et al (2001) [28] as plantas quando jovens absorvem maiores quantidades de fósforo ocorrendo um crescimento rápido e intenso das raízes em ambientes com níveis adequados do nutriente, o que explica os maiores teores. Observou-se que o enxofre (S) seguiu esse mesmo comportamento quando se comparou a fase de crescimento das plantas com superioridade para as OPN jovens ($P > 0,05$). O enxofre apesar de ser um nutriente importantíssimo para a parte estrutural e metabólica da planta na produção de proteínas, ainda participa no mecanismo de defesa da planta contra pragas e doenças. [29]

Barreira et al (2021) [30] encontrou 689,41 mg 100g⁻¹ de potássio (K) nas folhas de OPN, enquanto Trentin et al. (2020) [19] encontrou 1800,7 mg 100g⁻¹, valores inferiores ao que encontramos 2412,22 mg 100g⁻¹ em média de K. Também encontramos um teor de cálcio superior aos demais estudos nas folhas de OPN plantadas em Presidente Prudente sendo 4146,67 mg 100g⁻¹, 3535,05 por Trentin et al. (2020) [19] e 427,08 por Barreira et al. (2021)

[30]. Trentin et al (2020) [19] encontrou 3263,34 mg 100g⁻¹ nas folhas de OPN de magnésio (Mg), nosso maior teor de Mg também foi nas folhas, sendo folha jovem (1123,33 mg 100g⁻¹) e folha adulta (1080 mg 100g⁻¹), ainda sendo valor superior à Barreira et al. (2021) [27] 88,84 mg 100g⁻¹. Considerando a ingestão dietética recomendada de minerais para adultos [30] sendo o cálcio, 1000 mg/dia e o magnésio, 260 mg/dia, 100g das folhas de OPN fornecem 4x mais desses macroelementos do que as doses dietéticas recomendadas.

Encontrado nas partes verdes das plantas, o Mg está presente como constituinte da molécula de clorofila, da qual é liberado pelas secreções gástricas e intestinais, este macroelemento tem papel de coenzima específica em grande número de enzimas essenciais nos processos metabólicos. [31]

O teor de boro (B) em OPN foi superior ao encontrado por Takeiti (2009) [32] 5,55 mg 100g⁻¹, todos os resultados apresentaram diferentes estatisticamente sendo o maior na folha jovem 7,25 mg 100g⁻¹, a título de comparação com alimentos conhecidos, a bebida açaí, obtida dos frutos da palmeira *Euterpe oleracea*, possui, em base seca, 1,58 mg 100 g⁻¹ de B [22]

Todos os resultados de cobre (Cu) em OPN foram superiores em até 10X aos encontrados por Barreira et al (2020) [27] 0,12 mg 100g⁻¹. De acordo com Franco (2004) [31] o cobre é um microelemento essencial para diversas funções orgânicas, como a mobilização do ferro para a síntese da hemoglobina.

Em relação ao teor de manganês (Mn) no estudo de Barreira et al. (2021) [27] encontrou-se (3,46 mg100g⁻¹) nas folhas, valor compatível ao teor nas folhas na maior fase de crescimento (3,34 mg100g⁻¹). Os maiores teores de zinco também estão presentes nas folhas com valores de 3,75 na folha jovem e 3,48 na folha adulta resultado inferior ao encontrado por Trentin et al. (2020) [19] 12,22 e superior ao encontrado nas folhas de OPN por Barreira et al. (2021) [27] 0,05mg 100g⁻¹. O zinco (Zn) é um elemento traço essencial ao organismo humano. É um constituinte de muitas enzimas envolvidas em processos metabólicos, contendo a insulina-zinco e, geralmente, verduras folhosas e frutas são fontes modestas deste elemento, [31] a dose diária recomendada para o adulto é de 7 mg [30] portanto as folhas de OPN contém alto conteúdo de zinco, ou seja, mais de 30% [8] cerca de 50% da dose diária recomendada.

Tabela 3. Presença de compostos bioativos carotenóides de ora-pro-nóbis em diferentes fases de crescimento e partes da planta.

	PA	PJ	CA	CJ	FA	FJ	P
Clorofila A (mg 100ml ⁻¹)	35,29 ^a ±0,16	35,38 ^a ±0,03	21,50 ^b ± 0,98	16,77 ^c ±0,08	35,35 ^a ±2,59	35,14 ^a ±0,28	<0,0001
Clorofila B (mg 100ml ⁻¹)	47,88 ^a ±2,28	37,22 ^c ±1,59	18,58 ^d ± 1,39	13,13 ^d ± 0,76	41,18 ^{bac} ±3,42	37,80 ^{bc} ± 3,84	<0,0001
Licopeno (mg 100ml ⁻¹)	14,46 ^a ±0,81	11,78 ^a ±0,13	6,22 ^b ±0,90	2,25 ^c ±1,28	13,42 ^a ±2,28	13,04 ^a ±1,04	<0,0001
Betacaroteno (mg 100ml ⁻¹)	nd	nd	nd	4,63 ±0,67	nd	nd	

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA (p<0,05) e teor não detectado (nd).

Os carotenóides são, juntamente com as clorofilas, os pigmentos mais abundantes na natureza e estão presentes em muitos organismos, mesmo que geralmente sejam sintetizados por espécies fotossintéticas. Em complexos fotossintéticos, as funções de carotenóides variam de absorção de luz na faixa de 400-500 nm região, estendendo assim a faixa de absorção de comprimento de onda de clorofilas, para proteção do sistema contra o estresse fotooxidativo pela extinção de moléculas excitadas e oxigênio reativo espécies [33]. No entanto, o perfil de carotenóides em plantas é importante, não só pela coloração e função fisiológica, mas também devido aos seus reconhecidos papéis na saúde humana. Os enóides carotídeos são compostos lipossolúveis com vários e alto potencial para atuar como compostos funcionais. [34]

Teixeira et al (2021) [35] quantificou o teor de clorofila A (28,5 mg 100ml⁻¹) e clorofila B (7,5 mg 100ml⁻¹) apenas nas folhas de OPN, onde os resultados são compatíveis com o nosso estudo, demonstrados na **Tabela 3**, o único que quantificou o teor de carotenóides em diferentes partes da planta e diferentes fases de crescimento, e valores inferiores foram demonstrados no estudo publicado por Trentin (2020) [19] 0,80 µg 100 g⁻¹ para clorofila A e 1,41 µg 100 g⁻¹ de clorofila B também apenas nas folhas.

De acordo com a resolução nº19/1999 da ANVISA [37] dentro os carotenóides o licopeno tem alegação de propriedade funcional aprovada “O licopeno tem ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”. Como podemos observar na **Tabela 3** foi encontrado valor significativo de licopeno tanto na planta inteira como nas folhas de OPN, valor muito superior ao resultado de Trentin et al. (2020) [19] com 25,02 µg 100 g⁻¹, expresso

em μg nas folhas, porém cabe observar que foi utilizada uma metodologia de análise diferente.

Encontrou-se betacaroteno apenas no caule jovem (4,63mg/100ml), Trentin et al. (2020) [19] quantificou o betacaroteno nas folhas de OPN utilizando uma metodologia diferente ($71,37 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), enquanto Agostini-Costa et al (2014) [38] encontrou valores entre 13,8 à 47,0 g/g sendo esta diferença analisada de acordo com a exposição ao sol. De acordo com Agostini-Costa et al (2014) [38] a exposição à luz solar, até um certo limite, aumenta a biossíntese de carotenóides especialmente em frutas, em contrapartida a fotodegradação pode prevalecer em folhas sob o excesso de luz solar, portanto encontrou-se teor de betacaroteno apenas no caule novo devido a menor fotodegradação do carotenóide nesta parte da planta.

Tabela 4. Teor de fenólicos totais de ora-pro-nóbis de acordo com solvente extrator em diferentes fases de crescimento e partes da planta.

	PA	PJ	CA	CJ	FA	FJ	P
Álcool 96° (EAG g^{-1})	0,22 ^c ±0,06	0,27 ^c ±0,02	nd	nd	0,78 ^a ±0,06	0,49 ^a ±0,10	<0,0001
Etanol 70% (EAG g^{-1})	2,91 ^b ±0,27	4,14 ^a ±0,48	1,95 ^c ±0,23	2,68 ^b ±0,10	3,42 ^a ±0,16	4,98 ^a ±0,58	<0,0001
Metanol 30% (EAG g^{-1})	2,41 ^c ±0,57	4,09 ^{ba} ±0,37	1,72 ^c ±0,07	2,67 ^c ±0,85	5,56 ^a ±0,36	5,09 ^{ab} ±0,75	<0,0001
Ext Aquoso (EAG g^{-1})	3,40 ^c ±0,09	5,52 ^{ba} ±0,49	1,92 ^d ±0,36	2,97 ^{cd} ±0,45	6,40 ^{ab} ±0,86	7,50 ^a ±0,62	<0,0001

Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA ($p < 0,05$) e teor não detectado nd.

A escolha do solvente extrator tem suas vantagens e desvantagens, a água é um solvente universal, utilizado para extrair produtos vegetais e fenólicos solúveis em água. O álcool é mais eficiente na degradação das paredes celulares e das sementes, que possuem caráter apolar e fazem com que os polifenóis sejam liberados das células. Ao adicionar água ao etanol puro até 30% para a preparação de etanol 70% a polaridade do solvente é aumentada. O metanol é mais polar que o etanol, mas possui natureza citotóxica. Pode ocorrer uma diminuição da atividade do extrato aquoso, devido à enzima polifenol oxidase, enquanto em metanol e etanol eles são inativos. [39]

O solvente utilizado para extração influencia diretamente no teor de fenólicos totais, como podemos observar na **Tabela 4**, a capacidade de extração da solução aquosa foi superior aos demais extratos e o teor dos compostos bioativos foi encontrado predominantemente nas folhas e na planta inteira jovem. Os resultados do presente estudo estão inferiores aos resultados publicados em artigos recentes de compostos fenólicos totais em folhas de OPN, sendo que TRENTIN et al. (2020), GARCIA e MACIEL et al. (2021), e CARVALHO et al. (2019) utilizaram solventes diferentes. [19] [33] [21] [9] SOUZA (2016) comparou o teor de fenólicos totais em folhas de OPN em metanol, éter e clorofórmio. [3] Gavamukulya et al. (2014) [40] determinaram a composição fitoquímica em extratos de folhas etanólicas e aquosas de *Annona muricata* L., relatando valores de compostos fenólicos variando de 373 a 684 μg de extrato de GAE mL⁻¹. Eles também observaram maiores teores de fenólicos no extrato aquoso do que extrato etanólico.

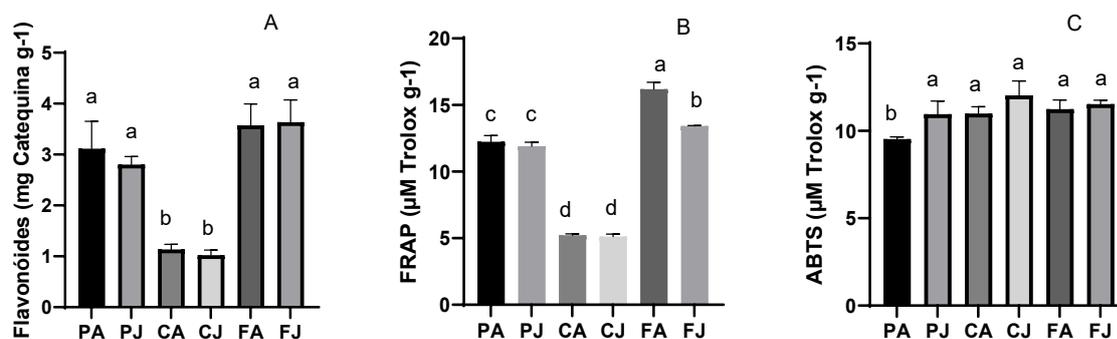


Figura 1. Presença de compostos bioativos flavonóides (A) e capacidade antioxidante *in vitro* FRAP (B) e ABTS (C) de ora-pro-nóbis em diferentes fases de crescimento e partes da planta. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA ($p < 0,05$).

Há muitas evidências epidemiológicas de que dietas ricas em frutas e vegetais podem reduzir a incidência de doenças não transmissíveis, como doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e acidente vascular cerebral. Os efeitos protetores são atribuídos, em parte, aos metabólitos secundários fenólicos, tanto através da diminuição dos radicais livres como através de efeitos moduladores nas células de ação seletiva em diferentes componentes das cascatas de sinalização intracelular. [40] [34]

Os metabólitos secundários de plantas, considerados fitoquímicos, são substâncias que na planta têm pouco ou nenhum papel na fotossíntese, respiração ou crescimento e desenvolvimento, mas que podem se acumular em concentrações surpreendentemente altas.

Os flavonóides são os mais numerosos dos fenólicos e são encontrados em todo o reino vegetal, estão presentes principalmente na epiderme das folhas e na pele das frutas. [34]

Considerando a fase de crescimento e a parte da planta encontrou-se os maiores teores de flavonóides na folha adulta (3,57 mg catequina g⁻¹), folha jovem (3,63 mg catequina g⁻¹), planta inteira adulta (3,11 mg catequina g⁻¹), planta inteira jovem (2,80 mg catequina g⁻¹) respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si, e menores teores no caule adulto (1,14 mg catequina g⁻¹) e caule jovem (1,02 mg catequina g⁻¹), não diferindo estatisticamente entre si. Resultado inferior ao de Garcia et al. (2019) [33] que encontrou (11,4 mg catequina g⁻¹) de flavonóides nas folhas de OPN e superior ao resultado de Maciel et al. (2021) [21] apenas (0,145 mg catequina g⁻¹) no extrato aquoso de folhas de OPN.

De acordo com Gobbo-Neto e Lopes (2007) [35] o metabolismo secundário de plantas pode variar consideravelmente dependendo de vários fatores, como sazonalidade, ritmo circadiano, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes no solo, altitude, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos ou ataques de patógenos, bem como outros fatores, tais como condições de coleta, estabilização e estocagem, podem ter grande influência na qualidade e, conseqüentemente no valor terapêutico de extratos vegetais.

Foram identificados um total de 10 compostos fenólicos no estudo do perfil fenólico de *Pereskia aculeata* realizado por Garcia et al. (2019) [33], dois ácidos fenólicos (derivados do ácido cafeico) e oito flavonoides (derivados de quercetina, kaempferol e isoramnetina glicosídeo), o ácido cafeico foi o principal extrato constituinte fenólico, responsável por mais de 49% do conteúdo fenólico, seguido de quercetina-3-O-rutosídeo (14,99%) e isoramnetina-O-rutosídeo (9,56%), apresentando também valores relevantes de capacidade antioxidante, com atividades superiores ao Trolox no DPPH e ABTS. **Na figura 1** verifica-se que quanto maior a quantidade de flavonóides, maior é a atividade antioxidante pelo método de redução do ferro. A parte da planta de OPN com maior capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) foram as folhas, sendo a folha adulta (16,18 µM Trolox g⁻¹), folha jovem (13,42 µM Trolox g⁻¹), planta inteira adulta (12,24 µM Trolox g⁻¹) e planta inteira jovem (11,91 µM Trolox g⁻¹) todos diferindo estatisticamente e a menor a do caule jovem (5,12 µM Trolox g⁻¹) e caule adulto (5,22 µM Trolox g⁻¹) não diferindo estatisticamente entre si. Valores superiores ao encontrado por Garcia (2019) [33] com resultado de 10,12 µM Trolox g⁻¹ nas folhas de OPN e 0,909 µM Trolox g⁻¹ encontrado por Maciel (2021) [21] no extrato aquoso de folhas OPN.

Pelo método de caracterização pelo sequestro do radical sintético ABTS, a parte da planta de OPN com menor capacidade antioxidante foi a planta adulta ($9,54 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) diferindo estatisticamente do caule jovem ($12,04 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) e das folhas jovens ($11,54 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) e folha adulta ($11,25 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$). Resultado inferior ao encontrado na literatura por Trentin (2020) [19] $15,02 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$ nas folhas de OPN. Garcia (2019) [33] encontrou resultado de $45.5 \mu\text{g/ml}$.

Para além das doenças crônicas não transmissíveis a atividade antinoceptiva da OPN foi avaliada pelos testes de contorção, formalina e movimento de cauda induzidos por ácido acético em camundongos, os resultados sugerem que o mecanismo de ação antinoceptiva não envolvam receptores opióides, mas provavelmente estava associado a uma atividade periférica e central. Assim é possível que esta planta tenha aplicação como fitoterápico analgésico. [42]

O perfil bioquímico e corporal de ratos wistar foram avaliados em dois estudos, o primeiro após a ingestão de suco contendo folhas de OPN (1:20) em um período de 35 dias e o segundo após 40 dias da ingestão de ração comercial para ratos enriquecida com 30% da farinha das folhas de OPN, demonstrando seu uso potencial em saúde. Os resultados de Souza et al. (2015) [43], demonstraram o não aumento de triglicérides frente a uma dieta hipercalórica e mudanças significativas no índice glicêmico além do efeito hepatoprotetor. De acordo com Barbalho et al. (2016) [44] foi demonstrado que a planta tem potencial para tratar obstipação, animais tratados com farinha de OPN mostraram motilidade intestinal maior que nos grupos controle e sene (fitoterápico laxante).

A atividade antimicrobiana exibida pelo extrato contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas sugere a presença de um amplo espectro de fitoquímicos com atividade antibiótica, além da ausência verificada de hepatotoxicidade no PLP2. [33]

4. CONCLUSÃO

A ora-pro-nóbis cultivada em Presidente Prudente-SP mostrou alta qualidade quanto a sua composição bromatológica em ambas as fases de crescimento da planta, sua maturidade não interfere significativamente no teor de compostos bioativos garantindo sua atividade antioxidante e efeito funcional. É rica em matéria mineral onde a planta mais jovem apresentou melhores resultados, podendo ser utilizada como suplementação alimentar humana.

5. AGRADECIMENTOS

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (Brasil) CAPES – Código de Financiamento 001”.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] KINUPP, V. F. Plantas Alimentícias Não-Convencionais (PANCs): uma Riqueza Negligenciada. Nos **Anais da: 61a Reunião Anual da SBPC**, 2009.
- [2] Duarte, M.R, Hayashi, S.S. Estudo anatômico dde folha e caule de *Pereskia aculeata Mill.* (Cactaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2008; 15(2):103-109.
- [3] Souza, R.M.F., Lira, C.S., Rodrigues, A.O., Morais, S.A.L., Queiroz, C.R.A.A., Chang, R., Aquino, F.J.T., Munoz, R.A.A., Oliveira, A. Atividade antioxidante de extrato de folhas de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata Mill.*) usando métodos espectrofotométricos e voltamétricos *in vitro*. *Bioscience Journal*, Uberlândia 2014
- [4] Oliveira, V.S., Valença, R.L., Santana-Neto, J.A.Santana, J.C.S., Santos, C.B., Lima, I.G.S. Utilização da Técnica de Produção de gás In Vitro para Estimar a Digestibilidade dos Alimentos. *REVISTA CIENTÍFICA DE MEDICINA VETERINÁRIA*. 2014; 12(23).
- [5] Silva, L.W. Potencial tecnológico da folha da *Pereskia aculeata Miller* (ora-pronóbis): Uma Revisão. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO TECNOLÓGICO DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS. 2019 Tcc (Trabalho de conclusão de curso).
- [6] Amaral, T. N., Junqueira, L.F., Prado, M.E.T., Cirillo, M.A., Abreu, L.R., Costa, F.F., Resende, J.V. Blends of *Pereskia aculeata Miller* mucilage, guar gum, and gum Arabic added to fermented milk beverages. *Food Hydrocolloids*, 2018; 79:331–342. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.009>
- [7] Almeida-Filho, J., Cambraia, J. Estudo do valor nutritivo do “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata Mill.*). *Ceres* 1974; 21:105-111.
- [8] Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 54 de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. 2012 Diário Oficial da União, Brasília
- [9] Carvalho, M.F.F, Leonardo, M.M., Mesndes, M.P., Gesser, C.F.M, Peralta, R.M., Monteiro, R.G.A. Centesimal Evaluation of Two Species of Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata Miller* and *Pereskia grandifolia Haw*) and Application in Extruded Product. *Chemical Engineering Transactions* 2019; 75:325-330. DOI:10.3303/CET1975055
- [10] Sato, R., Cilli, L. P. L., Oliveira, B. E., Maciel, V. B. V., Venturini, A. C., & Yoshida, C. M. P. Nutritional improvement of pasta with *Pereskia aculeata Miller*: A non-conventional edible vegetable. *Food Science and Technology* 2019; 39(1):28-34. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/fst.35617>

- [11] Zem, L.M.; Helm, C.V.; Zufellatto-Ribas, K.C., Koheler, H.S. A nutritional analysis of juices of ora-pro-nobis's leaves and stalks. *Revista Eletrônica Científica da UERGS*, 2018; 4(3):512-524. DOI: <https://doi.org/10.21674/2448-0479.43.512-524>
- [12] AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (2000) *Official methods of analysis* (17th ed.). Arlington, VA.
- [13] Malavolta, E.V.G.C., Oliveira, S.A. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 2ª Edição 1997
- [14] Nagata, M., Yamashita, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea*, 1992; 39(10):514-523
- [15] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 1965; 16(3):144-158.
- [16] Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants [Standardization of propolis extract and identification of principal constituents]. *J Pharm Belg*. 1994; 49(6):462-8.
- [17] Benzie, I. F., & Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 1996; 239:70-76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.
- [18] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999; 26:1231-1237.
- [19] Trentin, M.M., Bampi, M., Dinon, A.Z. Nutritional and rheological evaluation of blends based on ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) and wheat flour. *Research, Society and Development*, 2020; 9(1). DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i119728>.
- [20] Martins, J.V.S., Kohl, E.S., Vieira, D.G, Pereira, L.C., Messias, E.A., Silva, L.G., Itavo, L.C.V., Mateus, R.G. Degradabilidade *in situ* da matéria seca e fibra em detergente neutro de *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nobis). *Anais eletrônicos em: ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA*. 2017 Campinas, Galoá,.
- [21] Maciel, V. B. V., Bezerra, R. Q., Chagas, E. G. L., Yoshida, C. M. P., & Carvalho, R. A. Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller): a potential alternative for iron supplementation and phytochemical compounds. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2021; 24:2020180. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.18020>
- [22] Kinupp, V. F. ; Barros, I.B.I. Teores de proteínas e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2008; 28(4): 846-857.

- [23] Rodrigues, S. Marinelli, P.S., Otoboni, A.M.M.B, Tanaka, A.Y., Oliveira, A.S. Chemical and nutritional characterization of the ora-pro-nobis flour (*Pereskia aculeata* Mill.). Revista FAEF, Garça, 2014; 26.
- [24] Pimentel, B.M.V.; Francki, M.; Gollucke, B.P. Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias biativas em alimentos, 2005, Editora Varela.
- [25] Assis, E.T.C.M; Pereira, J.S.; Santos, T.A. Um novo olhar sobre a parede celular vegetal: uma revisão de literature. Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente, 2021; 2 (3). DOI: <https://doi.org/10.51189/rema/1386>
- [26] Rodriguez, M.B.S.; Megias, S.M.; Baena, B.M. Alimentos Funcionales Y Nutricion optima. Revita da Espanha de Salud Publica, 2003, 77 (3):317-331
- [27] Barreira, T.F., Paula-Filho, G.X., Priore, S.E., Santos, R.H.S., Pinheiro-Santana, H.M. Nutrient Content in ora-pro-nóbis (*Pereskia acuelata* Mill.): unconventional vegetable of the Brazilian Atlantic Forest. Food Science and Technology. 2021; 41: 47-51. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.07920>.
- [28] Grant, A.A.J., Flaten, D.N. Tomasiewicz, D.J., Sheppard, S.C. A Importância do Fósforo no Desenvolvimento Inicial da Planta. Potafos 2021
- [29] Stipp, S. R, Casarin, V. A importância do enxofre na Agricultura Brasileira. Informações Agronomicas, 2010; 129.
- [30] Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269 de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre aprovar o ‘REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE A INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA (IDR) DE PROTEÍNA, VITAMINAS E MINERAIS’ 2005 Diário Oficial da União, Brasília
- [31] Franco, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9 ed. São Paulo: Atheneu, 2004.
- [32] Takeiti, C., Antonio, G., Motta, E., Collares-Queiroz, F., Park, K. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2009; 60(1):148–160. doi:10.1080/ 09637480802534509
- [33] Garcia, J.A.A., Correia, R.C.G, Barros, L., Pereira, C., Abreu, R.M.V., Alves, M.J., Calhella, R.C., Bracht, A., Peralta, R.M., Ferreira, I.C.F.R. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. Food Chemistry, 2019; 294:302-308.
- [34] Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. Natural Product Reports 2009; 26(8):965-1096. DOI: 10.1039/b802662a

- [35] Gobbo-Neto, L., Lopes, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quím. Nova* 2007; 30 (2) DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>
- [36] Teixeira, A.G., Cabral, M.O., Oliveira, F.L., Dalvi, L.P., Menini, L., Rocha, L.F. Interference of weeds on Barbados gooseberry initial development. *Horticultura Brasileira*, 2021; 39:155-160. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-0536-20210205>.
- [37] Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. 1999 Diário Oficial da União, Brasília
- [38] Agostini-Costa, T.S., Pessoa, G.K.A., Silva, D.B., Gomes, I.S. Silva, J.P. Carotenoid composition of berries and leaves from a *cactaceae* – *Pereskia sp* *Journal of Functional Foods* 2014; 11:178–184 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.09.015>
- [39] Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. *Int Pharm Sci* 2011; 1(1): 98-106.
- [40] Gavamukulya, Y., Abou-Elella, F., Wamunyokoli, F., & AEl-Shemy, H. Phytochemical screening, antioxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2014; 7(1):355-363. [http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60258-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60258-3)
- [41] Costa, E. B. O, Pacheco, C. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina. 2013; 125-136.
- [42] Pinto, N.C.C., Duque, A.P.N., Pacheco, N.R., Mendes, R.F., Motta, E.V.S., Bellozi, P. M. Q., Ribeiro, A., Salvador, M. J., Scio, E. *Pereskia aculeata*: A plant food with antinociceptive activity. *Pharmaceutical Biology*, 2015; 53:780-1785.
- [43] Souza, M.S.S., Barbalho, S.M., Guiguer, L.L., Araujo, A.C., Bueno, P.C.S., Farinazzi-Machado, F.M.V., Lima, L.M.L., Silva, B.C., Mendes, C.G. Effects of *Pereskia aculeata* Miller on the biochemical profiles and body compositions of wistar rats. *Journal of Biosciences and Medicines*, 2015; 3:82-89. DOI: [10.4236/jbm.2015.37010](https://doi.org/10.4236/jbm.2015.37010)
- [44] Barbalho, S.M., Guiguer, E.L., Marinelli, P.S., Bueno, P.C.S., Salzedas, L.M.P, Santos, M.C.B., Oshiiwa, M., Mendes, C.G., Menezes, M.L., Nicolau, C.C.T., Otoboni, A.M., Goulart, R.A. *Pereskia aculeata* Miller Flour: Metabolic Effects and Composition. *Journal of Medical Food* 2016; 19 (9) DOI: 10.1089/jmf.2016.0052

2 ARTIGO

CARACTERIZAÇÃO DA PANC ORA-PRO-NÓBIS: COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DIGESTIBILIDADE RUMINAL *IN VITRO*

CHARACTERIZATION OF ORA-PRO-NÓBIS PANC: BROMATOLOGICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND *IN VITRO* RUMINAL DIGESTIBILITY

Resumo

A ora-pro-nóbis, *Pereskia aculeata* Miller é uma planta alimentícia não convencional de fácil cultivo agrônomico e com boa resistência à falta de água, sendo recomendada para vários tipos de clima e solo. O objetivo desse trabalho é avaliar a composição bromatológica, digestibilidade, compostos bioativos e atividade antioxidante comparando a fase de crescimento e partes da planta com melhor aplicação na suplementação alimentar e determinar a diminuição dos componentes nutricionais com o tempo de plantio. O maior teor de proteína bruta está nas folhas da planta adulta (23,25%), porém a planta inteira e a folha da planta jovem também apresentou alto conteúdo proteico. No caule encontrou-se maior teores de fibras, aumentando de acordo com a idade da planta. Encontrou-se alto conteúdo de matéria mineral onde o tempo de plantio influencia diretamente no teor de macro e microminerais, tanto nas folhas como também na planta inteira jovem, que mostrou-se excelente fonte de Fe, Mg, P, S e Zn enquanto o K, Mn, Ca, B, e Cu estão predominantemente nas folhas. A fase de crescimento da planta não reduz o teor de compostos bioativos, garantindo sua capacidade antioxidante, FRAP (12,24 μM Trolox g^{-1}) e ABTS (12,04 μM Trolox g^{-1}) e efeitos protetores a saúde. A digestibilidade *in vitro* é de 68,85% demonstrando que essa PANC pode ser utilizada como suplementação alimentar tanto humana como em animais ruminantes.

Palavras-chave: ora-pro-nóbis, planta alimentícia não convencional, *Pereskia aculeata* Miller, compostos bioativos, digestibilidade.

Abstract

The ora-pro-nóbis, *Pereskia aculeata* Miller is an unconventional food plant of easy agronomic cultivation and with good resistance to lack of water, being recommended for various types of climate and soil. The objective of this work is to evaluate the chemical composition, digestibility, bioactive compounds and antioxidant activity comparing the growth phase and parts of the plant with the best application in food supplementation and to determine the decrease of the nutritional components with the planting time. The highest crude protein content is in the leaves of the adult plant (23.25%), but the whole plant and the leaf of the young plant also showed high protein content. Higher fiber content was found in the stem, increasing according to the age of the plant. A high content of mineral matter was found where the time of planting directly influences the content of macro and microminerals, both in the leaves and in the whole young plant, which proved to be an excellent source of Fe, Mg, P, S and Zn while the K, Mn, Ca, B, and Cu are predominantly in the leaves. The plant growth phase does not reduce the content of bioactive compounds, ensuring its antioxidant capacity, FRAP (12.24 μM Trolox g^{-1}) and ABTS (12.04 μM Trolox g^{-1}) and protective health effects. The *in vitro* digestibility is 68.85%, demonstrating that this PANC can be used as a food supplement for both humans and ruminant animals.

Keywords: ora-pro-nóbis, unconventional food plant, *Pereskia aculeata* Miller, bioactive compounds, digestibility.

1 Introdução

O Brasil apresenta, devido a sua extensão territorial, uma grande biodiversidade de espécies vegetais com propriedades relevantes tanto para a saúde humana, como animal. Um exemplo é a *Pereskia aculeata* Miller (PAM), considerada como uma planta alimentícia não convencional (PANC). Segundo KINUPP (2009) as PANC's são plantas com distribuição limitada, restrita à determinadas regiões, não cultivadas, compõe a uma cultura culinária regional e normalmente, não são comercializadas ou tem seu uso amplamente divulgado pelas empresas do setor agropecuário.

Nos últimos anos em função de alguns trabalhos de pesquisa, as PANC's ganharam a atenção dos pesquisadores e se mostram como alternativa para aproveitamento alimentício, sendo importante nutricionalmente e economicamente, em função do custo baixo de implantação. A *Pereskia aculeata* Miller é conhecida como ora-pro-nóbis (OPN), do latim *rogai por nós* ou ainda como: rosa-madeira, jumbeba, groselha de barbados, groselha das Américas, guaiapá (nome indígena que significa fruta com espinhos), trepadeira limão e popularmente como "carne de pobre", é uma planta perene da América tropical. A espécie pertence à família *Cactaceae* e a subfamília *Pereskioideae*. Em solo brasileiro, o cultivo se estende da Bahia até o Rio Grande do Sul (DUARTE & HAYASHI, 2008; SILVA, 2019).

Vários autores destacam que o cultivo da ora-pro-nóbis (SOUZA, 2013; OLIVEIRA et al., 2014) é relativamente simples, produtividade elevada, fácil propagação e boa adaptabilidade nos diferentes solos e climas, baixa incidência de doenças e a baixa demanda de água e fertilização. ALMEIDA FILHO & CAMBRAIA (1974) relatam alto valor nutricional das folhas de ora-pro-nóbis, com níveis protéicos superiores a 25%.

De acordo com a RDC No. 54/2012 (Brasil, 2012), a Ora-pro-nóbis pode ser considerada um alimento de alto valor nutricional em função da elevada porcentagem protéica, aproximadamente 25%, digestibilidade 80% e excelentes valores de minerais, 3,35g/100g de cálcio, 2,42g/100g de potássio, 1,13g/100g de fósforo, 0,45g/100g de 4 magnésio 0,98g/100g de enxofre, ferro nas folhas de 140,36 ppm e ferro no caule de 88,75 ppm. (CARVALHO et al., 2019).

PAULUCIO et al., (2014) relatam que além das propriedades benéficas já estabelecidas para a saúde humana, a OPN tem apresentado grande potencial para aplicabilidade na alimentação animal. O alto valor protéico e a excelente % de digestibilidade, bem como grande quantidade de ferro, fazem desse alimento um potencial substituto dos principais ingredientes utilizados atualmente e por se tratar de uma planta e não de um grão, seu custo contribui e muito para viabilidade econômica nas criações de ruminantes no Brasil.

Atualmente a produção animal depende diretamente do fornecimento de alimentos ricos nutricionalmente e da sua capacidade de conversão. Por este motivo, o conhecimento da bromatologia e da digestibilidade torna-se crucial, uma vez que esses fatores influenciarão diretamente na resposta do animal, bem como demonstrando seu desempenho. Segundo OLIVEIRA et al (2014) o conhecimento da digestibilidade dos alimentos auxilia os nutricionistas a definirem a qualidade nutricional da dieta, pois a digestibilidade determinará o aproveitamento real dos nutrientes pelo animal.

A totalidade de nutrientes absorvidos pelo indivíduo causa influência direta na responsiva do animal em produção (BERCHIELLI et al., 2005). A técnica de degradação dos alimentos *in vitro* foi desenvolvida por TILLEY & TERRY (1963), que simula os processos digestivos ruminais, sendo amplamente utilizada por apresentarem valores de digestibilidade similares com o *in vivo*. Relacionados especificamente aos estudos sobre a digestibilidade

ruminal *in vitro* da Ora-pro-nóbis e seu uso na nutrição de animais ruminantes, os artigos são escassos. TAKEITI et al. (2009) estudando a digestibilidade da proteína *in vitro* de folhas de *Pereskia aculeata* Miller, verificaram valores de 75,9% e mesmo sendo considerados valores altos, foram menores que os 85% de digestibilidade observados por CAMBRAIA (1980).

Em pesquisa realizada por VIEIRA et al (2017) avaliando a digestibilidade ruminal *in vitro* da Ora-pro-nóbis, verificaram valores para digestibilidade da matéria seca (DIMS) de 63,01% nas folhas e 66,04% na parte aérea total (folha e caule), sendo concluído pelos autores que esses dados são satisfatórios quando comparados a outras forrageiras destinadas à alimentação de animais ruminantes. Sendo assim, devido à composição nutricional e alto teor de nutrientes dessa PAM e também da necessidade de novas plantas com proteína digestível, as 5 espécies de *Pereskia* tornam-se uma opção viável (SOUZA, 2014) para a alimentação animal, no entanto ainda pouco difundida pelo produtor rural, bem como empresas do setor.

As propriedades funcionais da ora-pro-nobis vem ganhando atenção no meio científico, no entanto, na nutrição animal, as pesquisas são escassas e especificamente seu uso na alimentação de ruminantes é bem restrito. Por se tratar de uma planta de com grande apelo nutricional e de fácil cultivo agrônômico, se desenvolvendo com facilidade em diversos tipos de clima, este estudo tem como objetivo avaliar na região de Presidente Prudente, as características bromatológicas da ora-pro-nóbis, sua atividade antioxidante e digestibilidade ruminal *in vitro* nas folhas, caule e planta inteira considerando diferentes fases de crescimento para suplementação animal.

2. Material e métodos

2.1 Local, plantio e colheita da Ora-pro-nóbis

O plantio da Ora-pro-nóbis (OPN), foi realizado no final de 2019, no setor de plantas medicinais, localizado no campus 2, da UNOESTE, Presidente Prudente – SP.

As plantas matrizes foram cultivadas com espaçamento usual de 0,6 m entre elas, caracterizadas como banco de germoplasmas e não uma plantação comercial. Foram realizadas colheitas manuais, com aproximadamente 12 meses de idade, do setor de plantas medicinais, sendo consideradas plantas jovens de acordo com sua fase de crescimento e plantas com aproximadamente 5 anos de idade no setor de hortas, também da UNOESTE, sendo consideradas plantas adultas, sempre no período da manhã, descartando-se folhas de cada matriz apresentando danos físicos ou causados por doenças ou pragas, sendo que as folhas de cada matriz foram coletadas manualmente, separando as plantas em 6 amostras a planta inteira adulta, planta inteira jovem, somente o caule adulto, caule jovem, somente folhas adultas e folhas novas, homogeneizadas e posteriormente encaminhadas ao laboratório para a pré secagem em estufa à 55 °C por um período de 72 horas.

Após pré-secagem, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneira de 1mm para obtenção de um farelo, sendo então armazenadas ao abrigo da luz para posteriores análises.

2.2 Análise bromatológica da OPN

Após pré-secagem, a amostra foi triturada para obtenção de um farelo e encaminhada para análise de matéria seca (MS), em estufa a 105°C. A matéria seca foi determinada pela metodologia (950.46), para matéria mineral foi utilizada a incineração a 525°C (920.152), proteína bruta pela determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldal (920.152) e o extrato etéreo por Soxhlet pelo método (963.15), em triplicata para cada amostra. (AOAC, 1995). As análises de fibra em detergente neutro e ácido e lignina, em duplicata para cada amostra, foram realizadas de acordo com o método descrito por Van Soest *et al*, (1991).

As amostras foram encaminhadas ao laboratório certificado de Nutrição de Plantas da UNOESTE Presidente Prudente, onde foram realizadas as análises de macro e micro minerais

por espectrofotometria de absorção atômica seguindo metodologia de análise descrita por MALAVOLTA et al. (1997).

2.3 Determinação da concentração de carotenóides

Na determinação dos carotenóides foi utilizada a metodologia desenvolvida por NAGATA e YAMASHITA (1992) em uma diluição 1:20, utilizando como solvente a acetona-hexano (4:6) e após a extração foram realizadas as leituras das absorbâncias, em triplicata para cada amostra, onde através das equações matemáticas abaixo calculamos por diferenças de absorbâncias o teor de clorofila A, clorofila B, licopeno e betacaroteno.

$$\text{Clorofila A (mg 100ml}^{-1}\text{)} = (0.999A_{663} - 0.0989A_{645}) * 20$$

$$\text{Clorofila B (mg 100ml}^{-1}\text{)} = (-0.328A_{663} + 1.77A_{645}) * 20$$

$$\text{Licopeno (mg 100ml}^{-1}\text{)} = (-0.0458A_{663} + 0.0204A_{645} + 0.372A_{505} - 0.0806A_{453}) * 20$$

$$\text{Betacaroteno (mg 100ml}^{-1}\text{)} = (0.216A_{663} - 1.22A_{645} + 0.304A_{505} + 0.452A_{453}) * 20$$

2.4 Determinação dos compostos fenólicos e flavonóides totais da OPN

A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada no Laboratório de Nutrição da Unoeste, utilizando quatro solventes extratores diferentes com fator de diluição 1:50. O extrato etanólico 96%, obtido pela adição de 25,00 mL de álcool etílico 99,5% em tubos de ensaio contendo 0,50 g de amostra, onde a mistura permaneceu em repouso por 48 horas protegida da luz e posteriormente foram filtrados. O extrato etanólico 70% composto por 70% de etanol em água destilada, e o extrato metanólico 30% composto por 30% de metanol em água destilada, onde os frascos foram tampados e agitados por 2 h a 220 rpm, em temperatura ambiente e protegido de luz, este procedimento foi repetido por três ciclos. O

extrato aquoso onde amostras trituradas de OPN (1g) foram homogeneizadas em 50 mL de cloreto de sódio (50 mM) sendo agitados manualmente a cada 10 minutos à 75°C por 1 hora.

A concentração de compostos fenólicos totais foi determinada segundo o método de Folin-Ciocalteu, baseado na reação colorimétrica de oxidação/redução dos fenóis, em triplicata para cada amostra. Os resultados foram calculados com base na curva de calibração de ácido gálico e expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g. (SINGLETON & ROSSI, 1965)

O conteúdo total de flavonóides foi determinado usando o método de Dowd adaptado, baseado na reação do cloreto de alumínio em uma solução de metanol, em triplicata para cada amostra. Foi utilizada uma curva padrão de catequina com sete pontos de concentrações (5, 10, 25, 50, 100, 150 e 200 µg/ mL). O conteúdo total de flavonóides foi expresso como mg de equivalentes de catequina por g. (ARVOUET-GRAND et al., 1994).

2.5 Determinação do potencial antioxidante da OPN

O potencial antioxidante foi determinado pelos ensaios de FRAP e ABTS+, em triplicata para cada amostra, os quais mensuram o efeito do composto sobre diferentes radicais e processos oxidativos no extrato etanólico 1:50.

A capacidade de redução do ferro do extrato de OPN foi avaliada por meio do método FRAP. Para o ensaio são utilizadas as seguintes soluções: cloreto férrico 5,4% em água; ácido clorídrico (HCl) 40mM; tampão acetato 0,3M; e 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10mM. A partir destas soluções o reagente FRAP (1:1:10 / TPTZ: ClFe₃:Tampão) é preparado no dia da análise e deve ser mantido distante da luz. Para o ensaio são obtidas alíquotas da amostra, água destilada e reagente FRAP, na proporção de 1:3:30, mantidos em banho-maria por 30 minutos a 37°C e em seguida é feita a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 593nm. A curva padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido

carboxílico) foi preparada com sete pontos de concentrações (5, 10, 25, 50, 100, 200 e 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) $\mu\text{mol TE}$ e será utilizada para calcular a capacidade antioxidante da OPN por meio de regressão linear. O resultado foi expresso em $\mu\text{mol TE}$ (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) / g. (BENZIE & STRAIN, 1996).

O método ABTS+ se caracteriza por mensurar a captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS+), que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. Com essa metodologia, pode-se determinar a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica. O radical ABTS+ foi preparado a partir da mistura da solução estoque do radical com uma solução de persulfato de potássio 140mM e álcool etílico. A solução do radical ABTS+ deve permanecer por 16h em repouso, protegida da luz, antes de ser utilizada. A absorbância foi medida em espectrofotômetro em comprimento de onda de 734 nm, no tempo de 7 minutos, de acordo com o descrito no método. A curva padrão de Trolox foi preparada com concentrações de 100 a 1500 $\mu\text{mol TE}$ e foi utilizada para calcular a capacidade antioxidante da OPN por meio de regressão linear. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TEAC}$ por g. (RE et al., 1999).

2.6 Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS)

Amostras de planta inteira velha, planta inteira nova, folha velha e folha nova, totalizando quatro amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal, da UNOPAR – Universidade Norte do Paraná, campus de Araongas-PR. Para a determinação da digestibilidade *in vitro* (DIV) foi utilizada a técnica adaptada de TILLEY e TERRY (1963), utilizando a incubadora de agitação orbital da marca THOTH®.

As amostras foram acondicionadas em sacos feitos com tecido TNT de gramatura 40 com dimensão, de espaço útil, de 3cm X 5cm. Os sacos foram pesados vazios e serão pesados 0,50 gramas de amostra por saco em duplicata. Após as amostras serem pesadas e os sacos

lacrados, estas foram armazenadas em potes de vidro junto com uma solução tampão de pH 6,8 e mantidos em temperatura de 39°C e líquido ruminal, coletados em abatedouro bovino comercial. Os potes foram colocados na incubadora onde permanecerão por 48 horas realizando a fase de digestão microbiana. Após foram adicionados 32ml de solução de pepsina em cada pote e o pH ajustado entre 2,5 e 3,0 com solução de ácido clorídrico a 6M, sendo devolvidos a incubadora e permanecendo por mais 24 horas para a digestão enzimática. Após 24 horas, os saquinhos foram retirados dos potes e lavados com água destilada, até a água da lavagem estar clara, demonstrando a remoção de todos os reagentes utilizados. Seguido da lavagem os saquinhos foram colocados em estufa a 60°C por 72 horas, logo após em estufa 105°C por 60 min, e indo para o dessecador por 60 min ou até esfriarem para ser realizada a pesagem final.

Após a pesagem foi realizado o cálculo de DIVMS, sendo ele:

$$\text{DIVMS (\%)} = [100 - (\text{Pres} * 100) / \text{PA}]$$

Em que, DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca

Pres = [Cpeso final do saco após digestão com pepsina – (peso inicial do saco * correção do saco em branco)]

$$\text{PA} = \text{peso da amostra seca} [(\text{peso da amostra pré-seca} * \text{ASE}) / 100]$$

Correção do saco em branco = (peso final do branco / peso inicial do branco).

2.7 Análise estatística e apresentação dos resultados

Os resultados foram apresentados como média ± desvio-padrão entre todas as aferições. Foi utilizado o método de análise de variância, ANOVA, para avaliar os resultados obtidos, sendo considerados estatisticamente diferentes aqueles que apresentaram nível de

significância menor que 5% ($p < 0,05$), foi utilizado o teste de Tukey para comparação de médias e Shapiro Wilk para normalidade. A digestibilidade foi submetida ao teste de Kruskal-Wallis indicado para resultados não paramétricos. Para todas as análises foi utilizado o software GraphPad Prism 9.0.

3 Resultados e discussão

Os resultados encontrados para composição bromatológica de amostras de ora-pro-nóbis (**Tabela 1**) mostram resultados significativos para todas as análises. Sua comparação com outros resultados foi difícil, pois os estudos sobre o potencial nutricional dessa espécie são escassos, principalmente na literatura que objetivam a alimentação animal.

Tabela 1. Composição bromatológica de ora-pro-nóbis diferentes fases de crescimento e partes da planta.

	PA	PJ	CA	CJ	FA	FJ	P
Proteínas (%)	13,38 ^d ±0,08	16,91 ^c ± 0,56	8,25 ^e ± 0,42	7,45 ^e ± 0,17	23,25 ^a ± 0,78	19,82 ^b ± 0,03	<0,0001
Extrato etéreo (%)	2,76 ^d ±0,05	2,89 ^c ± 0,21	1,26 ^e ± 0,09	0,87 ^e ± 0,03	4,40 ^a ± 0,06	3,87 ^b ± 0,16	<0,0001
FDN (%)	63,87 ^b ± 1,19	64,24 ^b ± 1,27	74,65 ^a ± 1,98	73,98 ^a ± 0,64	41,35 ^c ± 0,41	43,01 ^c ± 4,57	<0,0001
FDA (%)	37,66 ^c ± 1,41	25,31 ^d ± 2,21	56,55 ^a ± 1,12	45,23 ^b ± 3,31	17,07 ^e ± 0,76	15,81 ^e ± 0,93	<0,0001
Lignina (%)	26,06 ^b ± 2,90	15,69 ^{bc} ± 2,82	42,14 ^a ± 9,00	23,22 ^b ± 2,97	8,83 ^c ± 2,68	7,30 ^c ± 0,32	<0,0001
Hemicelulose (%)	26,21 ^b ± 2,60	38,93 ^a ± 3,48	18,11 ^b ± 2,10	28,76 ^{ba} ± 3,95	24,29 ^b ± 0,35	27,21 ^{ba} ± 3,64	0,0060
Matéria Mineral (%)	15,40 ^{cb} ± 2,16	22,25 ^a ± 3,06	11,70 ^c ± 1,99	11,64 ^c ± 1,35	20,26 ^{ab} ± 1,62	22,83 ^a ± 1,63	<0,0001

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA ($p < 0,05$).

Folhas da OPN na maior fase de crescimento apresentaram o melhor teor de proteína encontrado (23,25%). Resultado maior que o encontrado por TRENTIN et al. (2020) 18,29% e MARTINS et al. (2017) 17,07%, compatível com MACIEL et al. (2021) 21,81% e menor

que os 35,29 % encontrado por CARVALHO et al. (2019), o que demonstra uma alta qualidade proteica em folhas de OPN cultivadas na região de Presidente Prudente.

Um aspecto positivo das plantas do gênero *Pereskia* é a baixa quantidade de lipídios, podendo ser utilizadas em dietas hipocalóricas e com restrição de lipídeos (RODRIGUES et al., 2014) o que podemos evidenciar nos resultados de extrato etéreo da **Tabela 1**.

De acordo com Assis (2021) a parede celular das plantas modifica-se gradualmente de acordo com as necessidades fisiológicas e/ou estímulos externos sofridos durante este período, podendo esta porção tornar-se mais espessa e impregnada por lignina, sendo este fenômeno uma característica da formação da parede secundária [45], o que podemos observar na **Tabela 1** onde o maior teor de lignina encontra-se no caule adulto (42,14%). MARTINS et al (2017) observou valor alto de hemicelulose no caule de OPN (31,1%), enquanto o nosso resultado foi de (18,11%) provavelmente essa diferença é devido a fase de crescimento da planta. O mesmo comportamento foi encontrado para a variável FDA e FDN.

O teor de cinzas em plantas do gênero *Pereskia* merece destaque por sua magnitude. Altos teores de cinzas indicam a presença de minerais que são importantes no metabolismo do organismo. Entre plantas alimentícias não convencionais, em diversas partes das plantas, não foi encontrado teor de cinzas mais elevado que as cactáceas estudadas (KINUPP & BARROS, 2008).

As maiores porcentagens de matéria mineral ou cinzas ($P < 0,05$) foram verificadas na folha jovem (22,83%), não havendo diferença ($P > 0,05$) para as outras partes. A composição da planta pode variar de acordo com a região do cultivo, devido a diferenças climáticas e geográficas, além da qualidade do solo, isso pode ser comprovado pelas diferenças quando se faz comparação com outros estudos, observando variação de MM de 0,96% BARREIRA et al.

(2021) a 45,05% CARVALHO et al. (2019). A partir da matéria mineral foram realizadas as análises de macro e microminerais as quais podem ser verificadas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Composição de macrominerais e microminerais de ora-pro-nóbis em diferentes fases de crescimento e partes da planta.

	PA	PJ	CA	CJ	FA	FJ	P
<i>Macrominerais</i> (mg 100g ⁻¹)							
Ca	1863,3 ^{cd} ±2,79	2906,6 ^{cb} ± 1,18	736,67 ^d ±0,72	1203,33 ^d ± 4,88	4146,67 ^a ± 4,20	3666,67 ^{ab} ± 7,58	<0,0001
P	180,67 ^c ±0,12	397,67 ^a ± 0,13	168,00 ^c ±0,04	295,33 ^b ± 0,93	180,67 ^c ± 0,12	407,00 ^a ± 0,18	<0,0001
S	130,00 ^c ±0,10	270,00 ^a ± 0,10	113,33 ^c ±0,06	290,00 ^a ± 0,10	240,00 ^b ± 0,10	266,67 ^a ± 0,06	<0,0001
K	1900,00 ±5,39	2250,00 ± 3,51	1853,33 ±1,03	1783,33 ± 6,43	3396,67 ± 3,80	3290 ± 10,52	0,0130
Mg	386,67 ^c ±0,65	876,67 ^b ± 0,32	73,33 ^d ±0,15	116,67 ^d ± 0,51	1123,33 ^a ± 1,19	1080,00 ^a ± 0,36	<0,0001
<i>Microminerais</i> (mg 100g ⁻¹)							
B	3,30 ^d ±1,00	4,25 ^c ± 1,00	2,40 ^f ±1,00	1,60 ^e ± 0,50	6,47 ^b ± 3,33	7,25 ^a ± 2,00	<0,0001
Cu	2,37 ^c ±1,90	3,60 ^{ac} ± 2,25	2,29 ^c ±1,53	2,74 ^c ± 5,25	5,09 ^{ab} ± 16,40	4,33 ^{cb} ± 10,94	0,0075
Fe	23,72 ^{ba} ±30,20	27,81 ^{ba} ± 124,56	10,35 ^b ±12,90	20,75 ^{ba} ± 31,65	24,30 ^{ba} ± 73,75	33,31 ^a ± 49,78	<0,0197
Mn	0,97 ^c ±1,31	2,20 ^b ± 0,75	1,25 ^c ±0,36	1,25 ^c ± 0,35	3,34 ^a ± 1,82	2,47 ^b ± 2,01	<0,0001
Zn	1,71 ^c ±5,39	3,94 ^a ± 5,67	1,84 ^c ±2,01	2,09 ^{cb} ± 4,21	3,75 ^a ± 8,71	3,48 ^{ab} ± 2,31	<0,0003

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA (p<0,05).

Os maiores teores de fósforo (P) foram verificados nas plantas com idade de corte menor (P<0,05) quando comparado com a planta adulta. Segundo GRANT et al (2001) as plantas quando jovens absorvem maiores quantidades de fósforo ocorrendo um crescimento rápido e intenso das raízes em ambientes com níveis adequados do nutriente, o que

explica os maiores teores. Observou-se que o enxofre (S) seguiu esse mesmo comportamento quando se comparou a idade de corte das plantas com superioridade para as OPN novas ($P > 0,05$). O enxofre apesar de ser um nutriente importantíssimo para a parte estrutural e metabólica da planta na produção de proteínas, ainda participa no mecanismo de defesa da planta contra pragas e doenças (STIPP & CASARIN, 2010)

BARREIRA et al (2021) encontrou 689,41 mg 100g^{-1} de potássio (K) nas folhas de OPN, enquanto TRENTIN et al. (2020) encontrou 1800,7 mg 100g^{-1} , valor inferior ao que encontramos apresentou 2412,22 mg 100g^{-1} em média de K. Também encontramos um teor de cálcio superior aos demais estudos nas folhas de OPN plantadas em Presidente Prudente sendo 4146,67 mg 100g^{-1} , 3535,05 por TRENTIN et al. (2020) e 427,08 por BARREIRA et al. (2021). TRENTIN et al (2020) encontrou 3263,34 mg 100g^{-1} nas folhas de OPN de magnésio (Mg), nosso maior teor de Mg também foi nas folhas, sendo as folhas jovens (1123,33%) e folhas adultas (1080%), ainda sendo valor superior à BARREIRA et al. (2021) 88,84 mg 100g^{-1} .

Encontrado nas partes verdes das plantas, o Mg está presente como constituinte da molécula de clorofila, da qual é liberado pelas secreções gástricas e intestinais, este macroelemento tem papel de coenzima específica em grande número de enzimas essenciais nos processos metabólicos. (FRANCO, 2004)

O teor de boro (B) em OPN foi superior ao encontrado por TAKEITI (2009) 5,55, todos os resultados apresentaram diferentes estatisticamente sendo o maior na folha jovem (7,25 mg 100g^{-1}), a título de comparação com alimentos conhecidos, a bebida açaí, obtida dos frutos da palmeira *Euterpe oleracea*, possui, em base seca, 1,58 mg 100g^{-1} de B (ROGEZ, 2000 apud KINUPP & BARROS, 2008).

Todos os resultados de cobre (Cu) em OPN foram superiores em até 10X aos encontrados por BARREIRA et al (2020) 0,12 mg 100g^{-1} . De acordo com FRANCO (2004) o

cobre é um microelemento essencial para diversas funções orgânicas, como a mobilização do ferro para a síntese da hemoglobina, sendo sua deficiência rara no homem, pois a quantidade nos alimentos habitualmente consumidos é adequada para prover às necessidades orgânicas porém a deficiência de cobre no gado determina uma anemia severa e fatal (fallingsickness, "mal de cair").

A suplementação com uma porcentagem de OPN em produtos alimentícios em silagem para alimentação animal se dá devido ao alto teor proteico da planta com alta digestibilidade e também devido ao alto teor de ferro. Encontrou-se ($33,31 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) de ferro nas folhas novas de OPN, valor superior ao estudo de BARREIRA et al. (2021) $13,89 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ e inferior a MACIEL et al. (2021) $47,81 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ e TRENTIN et al. (2020) $84,41 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$.

Em relação ao teor de manganês (Mn) no estudo de BARREIRA et al. (2021) encontrou-se ($3,46 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) nas folhas, valor compatível ao teor nas folhas adultas ($3,34 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$). Os maiores teores de zinco também estão presentes nas folhas com valores de 3,75 na folha jovem e 3,48 na folha adulta resultado inferior ao encontrado por TRENTIN et al. (2020) 12,22 e superior ao encontrado nas folhas de OPN por BARREIRA et al. (2021) $0,05 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$. O zinco (Zn) é um elemento traço essencial ao organismo. É um constituinte de muitas enzimas envolvidas em processos metabólicos, contendo a insulina-zinco e, geralmente, verduras folhosas e frutas são fontes modestas deste elemento. (FRANCO, 2004)

Tabela 3. Presença de compostos bioativos carotenóides de ora-pro-nóbis em diferentes fases de crescimento e partes da planta.

	PA	PJ	CA	CJ	FA	FJ	P
Clorofila A (mg 100ml ⁻¹)	35,29 ^a ±0,16	35,38 ^a ±0,03	21,50 ^b ± 0,98	16,77 ^c ±0,08	35,35 ^a ±2,59	35,14 ^a ±0,28	<0,0001
Clorofila B (mg 100ml ⁻¹)	47,88 ^a ±2,28	37,22 ^c ±1,59	18,58 ^d ± 1,39	13,13 ^d ± 0,76	41,18 ^{bac} ±3,42	37,80 ^{bc} ± 3,84	
Licopeno (mg 100ml ⁻¹)	14,46 ^a ±0,81	11,78 ^a ±0,13	6,22 ^b ±0,90	2,25 ^c ±1,28	13,42 ^a ±2,28	13,04 ^a ±1,04	<0,0001
Betacaroteno (mg 100ml ⁻¹)	nd	nd	nd	4,63 ±0,67	nd	nd	

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA ($p < 0,05$) e teor não detectado (nd).

Os carotenóides são, juntamente com as clorofilas, os pigmentos mais abundantes na natureza e estão presentes em muitos organismos, mesmo que geralmente sejam sintetizados por espécies fotossintéticas. Em complexos fotossintéticos, as funções de carotenóides variam de absorção de luz na faixa de 400-500 nm região, estendendo assim a faixa de absorção de comprimento de onda de clorofilas, para proteção do sistema contra o estresse fotooxidativo pela extinção de moléculas excitadas e oxigênio reativo espécies (CEREZO et al., 2012). No entanto, o perfil de carotenóides em plantas é importante, não só pela coloração e função fisiológica, mas também devido aos seus reconhecidos papéis na saúde humana. Os enóides carotídeos são compostos lipossolúveis com vários e alto potencial para atuar como compostos funcionais.

TEIXEIRA et al (2021) quantificou o teor de clorofila A (28,5 mg 100ml⁻¹) e clorofila B (7,5 mg 100ml⁻¹) apenas nas folhas de OPN, onde os resultados são compatíveis com o nosso estudo, demonstrados na **Tabela 3**, o único que quantificou o teor de carotenóides em diferentes partes da planta e diferentes idades de corte, e valores inferiores foram

demonstrados no estudo publicado por TRENTIN (2020) ($0,80 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) para clorofila A e ($1,41 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) de clorofila B também apenas nas folhas.

De acordo com a resolução nº19/1999 da ANVISA dentro os carotenóides o licopeno tem alegação de propriedade funcional aprovada “O licopeno tem ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”. Como podemos observar na **Tabela 3** foi encontrado valor significativo de licopeno tanto nas planta inteira como nas folhas de OPN, valor muito superior ao resultado de TRENTIN et al. (2020) com $25,02 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$, expresso em μg nas folhas, porém cabe observar que foi utilizada uma metodologia de análise diferente.

Encontrou-se betacaroteno apenas no caule jovem ($4,63\text{mg}/100\text{ml}$), TRENTIN et al. (2020) quantificou o betacaroteno nas folhas de OPN utilizando uma metodologia diferente ($71,37 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), enquanto AGOSTINI-COSTA et al (2014) encontrou valores entre $13,8$ à $47,0 \text{ g/g}$ sendo esta diferença analisada de acordo com a exposição ao sol. De acordo com AGOSTINI-COSTA et al (2014) a exposição à luz solar, até um certo limite, aumenta a biossíntese de carotenóides especialmente em frutas, em contrapartida a fotodegradação pode prevalecer em folhas sob o excesso de luz solar, portanto encontrou-se teor de betacaroteno apenas no caule novo devido a menor fotodegradação do carotenóide nesta parte da planta.

Tabela 4. Teor de fenólicos totais de ora-pro-nóbis de acordo com solvente extrator em diferentes fases de crescimento e partes da planta.

	PA	PJ	CA	CJ	FA	FJ	P
Álcool 96° (EAG g ⁻¹)	0,22 ^c ±0,06	0,27 ^c ±0,02	nd	nd	0,78 ^a ±0,06	0,49 ^a ±0,10	<0,0001
Etanol 70% (EAG g ⁻¹)	2,91 ^b ±0,27	4,14 ^a ±0,48	1,95 ^c ±0,23	2,68 ^b ±0,10	3,42 ^a ±0,16	4,98 ^a ±0,58	<0,0001
Metanol 30% (EAG g ⁻¹)	2,41 ^c ±0,57	4,09 ^{ba} ±0,37	1,72 ^c ±0,07	2,67 ^c ±0,85	5,56 ^a ±0,36	5,09 ^{ab} ±0,75	<0,0001
Ext Aquoso (EAG g ⁻¹)	3,40 ^c ±0,09	5,52 ^{ba} ±0,49	1,92 ^d ±0,36	2,97 ^{cd} ±0,45	6,40 ^{ab} ±0,86	7,50 ^a ±0,62	<0,0001

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA ($p < 0,05$) e teor não detectado (nd).

A escolha do solvente extrator tem suas vantagens e desvantagens, a água é um solvente universal, utilizado para extrair produtos vegetais e fenólicos solúveis em água. O álcool é mais eficiente na degradação das paredes celulares e das sementes, que possuem caráter apolar e fazem com que os polifenóis sejam liberados das células. Ao adicionar água ao etanol puro até 30% para a preparação de etanol 70% a polaridade do solvente é aumentada. O metanol é mais polar que o etanol, mas possui natureza citotóxica. Pode ocorrer uma diminuição da atividade do extrato aquoso, devido à enzima polifenol oxidase, enquanto em metanol e etanol eles são inativos. (TIWARI et al, 2011).

O solvente utilizado para extração influencia diretamente no teor de fenólicos totais, como podemos observar na **Tabela 4**, a capacidade de extração da solução aquosa foi superior aos demais extratos e o teor dos compostos bioativos foi encontrado predominantemente nas folhas e na planta inteira jovem. Os resultados do presente estudo estão inferiores aos resultados publicados em artigos recentes de compostos fenólicos totais em folhas de OPN, sendo que TRENTIN et al. (2020), GARCIA e MACIEL et al. (2021), e CARVALHO et al. (2019) utilizaram solventes diferentes. SOUZA (2016) comparou o teor

de fenólicos totais em folhas de OPN em metanol, éter e clorofórmio. GAVAMUKULYA et al. (2014) determinaram a composição fitoquímica em extratos de folhas etanólicas e aquosas de *Annona muricata* L., relatando valores de compostos fenólicos variando de 373 a 684 μg de extrato de GAE mL⁻¹. Eles também observaram maiores teores de fenólicos no extrato aquoso do que extrato etanólico.

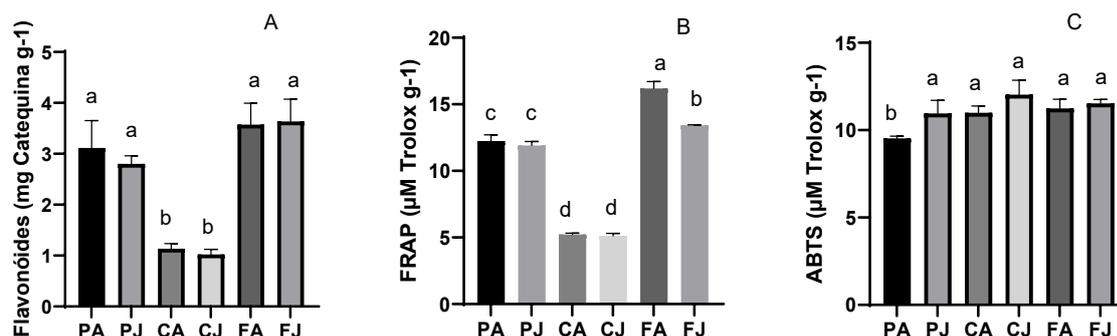


Figura 1. Presença de compostos bioativos flavonóides (A) e capacidade antioxidante *in vitro* FRAP (B) e ABTS (C) de ora-pro-nóbis em diferentes fases de crescimento e partes da planta. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), caule adulto (CA), caule jovem (CJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ). As diferenças estatísticas são representadas por letras diferentes de acordo com ANOVA ($p < 0,05$).

Há muitas evidências epidemiológicas de que dietas ricas em frutas e vegetais podem reduzir a incidência de doenças não transmissíveis, como doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e acidente vascular cerebral. Esses os efeitos protetores são atribuídos, em parte, aos metabólitos secundários fenólicos, tanto através da diminuição dos radicais livres como através de efeitos moduladores nas células de ação seletiva em diferentes componentes das cascatas de sinalização intracelular (COSTA & PACHECO, 2013 e CROSIER et al, 2009).

Os metabólitos secundários de plantas, considerados fitoquímicos, são substâncias que na planta têm pouco ou nenhum papel na fotossíntese, respiração ou crescimento e desenvolvimento, mas que podem se acumular em concentrações surpreendentemente altas. Os flavonóides são os mais numerosos dos fenólicos e são encontrados em todo o reino

vegetal, estão presentes principalmente na epiderme das folhas e na pele das frutas. (CROSIER et al., 2009)

Considerando a fase de crescimento e a parte da planta encontrou-se os maiores teores de flavonóides na folha adulta (3,57 mg catequina g⁻¹), folha jovem (3,63 mg catequina g⁻¹), planta inteira adulta (3,11 mg catequina g⁻¹), planta inteira jovem (2,80 mg catequina g⁻¹) respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si, e menores teores no caule adulto (1,14 mg catequina g⁻¹) e caule jovem (1,02 mg catequina g⁻¹), não diferindo estatisticamente entre si. Resultado inferior ao de Garcia et al. (2019) que encontrou (11,4 mg catequina g⁻¹) de flavonóides nas folhas de OPN e superior ao resultado de Maciel et al. (2021) apenas (0,145 mg catequina g⁻¹) no extrato aquoso de folhas de OPN.

De acordo com GOBBO-NETO & LOPES (2007) o metabolismo secundário de plantas pode variar consideravelmente dependendo de vários fatores, como sazonalidade, ritmo circadiano, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes no solo, altitude, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos ou ataques de patógenos, bem como outros fatores, tais como condições de coleta, estabilização e estocagem, podem ter grande influência na qualidade e, conseqüentemente no valor terapêutico de extratos vegetais.

Foram identificados um total de 10 compostos fenólicos no estudo do perfil fenólico de *Pereskia aculeata* realizado por Garcia et al. (2019), dois ácidos fenólicos (derivados do ácido cafeico) e oito flavonoides (derivados de quercetina, kaempferol e isorhamnetina glicosídeo), o ácido cafeico foi o principal extrato constituinte fenólico, responsável por mais de 49% do conteúdo fenólico, seguido de quercetina-3-O-rutosídeo (14,99%) e isoramnetina-O-rutosídeo (9,56%), apresentando também valores relevantes de capacidade antioxidante, com atividades superiores ao Trolox no DPPH e ABTS. Na **figura 1** verifica-se que quanto

maior a quantidade de fenóis totais e flavonóides, maior é a atividade antioxidante pelo método de redução do ferro. A parte da planta de OPN com maior capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) foram as folhas, sendo a folha adulta ($16,18 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$), folha jovem ($13,42 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$), planta inteira adulta ($12,24 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) e planta inteira jovem ($11,91 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) todos diferindo estatisticamente e a menor a do caule jovem ($5,12 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) e caule adulto ($5,22 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) não diferindo estatisticamente entre si. Valores superiores ao encontrado por GARCIA (2019) com resultado de $10,12 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$ nas folhas de OPN e $0,909 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$ encontrado por MACIEL (2021) no extrato aquoso de folhas OPN.

Pelo método de caracterização pelo sequestro do radical sintético ABTS, a parte da planta de OPN com menor capacidade antioxidante foi a planta adulta ($9,54 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) diferindo estatisticamente do caule jovem ($12,04 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) e das folhas jovens ($11,54 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) e folha adulta ($11,25 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$). Resultado inferior ao encontrado na literatura por TRENTIN (2020) $15,02 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$ nas folhas de OPN. GARCIA (2019) encontrou resultado de $45.5 \mu\text{g/ml}$.

Tabela 5. Digestibilidade in vitro da matéria seca de ora-pró-nobis com diferentes fases de crescimento e partes da planta.

	FV	FN	PV	PN	P
Digestibilidade (%)	$74,22 \pm 7,67$	$74,445 \pm 7,085$	$54,69 \pm 10,96$	$72,065 \pm 7,925$	0,0745

Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão e submetidos ao teste estatístico Kruskal-Wallis. Planta inteira adulta (PA), planta inteira jovem (PJ), folha adulta (FA) e folha jovem (FJ).

A determinação da digestibilidade na matéria seca (DIVMS) apresentaram valores médios de 68,85% sendo este resultado maior no presente estudo do que o encontrado por VIEIRA et al (2017) cujos resultados foram de 43,27% no caule, 63,01% na folha e 66,04% na planta inteira. TAKEITI et al (2009) obteve 75,9% de digestibilidade da proteína in vitro de folhas de OPN hidrolisada, ressaltando a importância do presente trabalho devido à

escassez de estudos. Os resultados de digestibilidade apresentados mostram-se satisfatórios em relação a outras PANCs utilizadas na alimentação animal como a *Moringa oleifera* e também a outras forrageiras utilizadas na alimentação de ruminantes, conforme resultados obtidos por MEDEIROS et al (2015) que comparou fontes proteicas alternativas a silagem de milho (DIVMS 60,7%) com o algodão (DIVMS 59,5%), a moringa (DIVMS 79,1%), a mamona (DIVMS 49,7%) e girassol preto (DIVMS 58,2%).

4. CONCLUSÃO

A ora-pro-nóbis cultivada em Presidente Prudente-SP mostrou alta qualidade quanto a sua composição bromatológica em ambas as fases de desenvolvimento da planta, demonstrando que sua maturidade não interfere significativamente nos compostos bioativos garantindo sua atividade antioxidante e efeitos protetores. É rica em matéria mineral onde a planta mais jovem apresentou melhores resultados. Sua excelente digestibilidade *in vitro*, indica boas perspectivas de uso em animais ruminantes como volumoso de alto teor proteico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTA et al. Carotenoid composition of berries and leaves from a *cactaceae* – *Pereskia sp* **Journal of Functional Foods**, 2014, v.11, p.178–184 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.09.015>

ALMEIDA-FILHO, J., CAMBRAIA, J. Estudo do valor nutritivo do “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata* Mill.). **Ceres**, 1974; v.21,p.105-111.

AMARAL, T. N et al. Blends of *Pereskia aculeata* Miller mucilage, guar gum, and gum Arabic added to fermented milk beverages. **Food Hydrocolloids**, 2018, v. 79, p. 331–342. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.009>

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis** (17th ed.). Arlington, VA, 2000.

ARVOUET-GRANT et al. Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants [Standardization of propolis extract and identification of principal constituents]. **J Pharm Belg**. 1994, v.49, n.6, p.462-468.

ASSIS, E.T.C.M et al Um novo olhar sobre a parede celular vegetal: uma revisão de literatura. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, 2021, v.2, n.3. DOI: <https://doi.org/10.51189/rema/1386>

BARREIRA et al. Nutrient Content in ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.): unconventional vegetable of the Brazilian Atlantic Forest. **Food Science and Technology**. 2021, v. 41, p. 47-51, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.07920>.

BENZIE, I. F., & STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analyticalbiochemistry**, 1996, v.239, n.1, p.70-76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.

BERCHIELLI, T.T. et al. Aplicação de técnicas para estudo de ingestão, composição da dieta e digestibilidade. **Archives of Veterinary Science**, 2005, v.10, n.2, p.29-40.

BOTREL, N.; MADEIRA, N. R. Contextualizando e Resgatando a Produção e o Consumo das hortaliças tradicionais da biodiversidade brasileira. **Rev Bras Nutri Func** , 2019, n.43 v.78. DOI:[10.32809/2176-4522.43.78.03](https://doi.org/10.32809/2176-4522.43.78.03)

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1999.

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269 de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre aprovar o ‘REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE A INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA (IDR) DE PROTEÍNA, VITAMINAS E MINERAIS’ **Diário Oficial da União**, Brasília, 2005.

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 54 de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2012.

CARVALHO, M.F.F et al. Centesimal Evaluation of Two Species of Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller and *Pereskia grandifolia* Haw) and Application in Extruded Product. **Chemical Engineering Transactions**, 2019, v. 75, p. 325-330. DOI:10.3303/CET1975055

COSTA, E. B. O, PACHECO, C. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, 2013, p.125-136.

CROZIER, A. et al. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, 2009, v.26, n.8, p.965-1096 DOI: 10.1039/b802662a

DUARTE, M.R, HAYASHI, S.S. (2008) Estudo anatômico dde folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2008, v. 15, n. 2, p103-109.

GARCIA, J.A.A., 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**, 2019, v. 294, p. 302-308.

GRANT ,A.A.J., et al. A Importância do Fósforo no Desenvolvimento Inicial da Planta. **Potafos**, 2021.

GAVAMUKULYA, Y. et al. Phytochemical screening, antioxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 2014, 7(Suppl.1), S355-S363. PMID:25312150. [http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60258-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60258-3)

GOOBO-NETO, L., LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, 2007, n.30, v.2. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9 ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

KINUPP, V. F. ; Barros, I.B.I. (2008) Teores de proteínas e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2008, v.28, n.4, p. 846-857. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n4/a13v28n4.pdf>.

KINUPP, V. F. Plantas Alimentícias Não-Convencionais (PANCs): uma Riqueza Negligenciada. Nos **Anais da: 61a Reunião Anual da SBPC**, 2009.

MACIEL V. B. V. et al. Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller): a potential alternative for iron supplementation and phytochemical compounds. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2021, n.24, e2020180. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.18020>

MALAVOLTA, E.V.G.C., OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato**, 1997, 2ª Edição.

MARTINS et al. Degradabilidade *in situ* da matéria seca e fibra em detergente neutro de *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nobis). Anais eletrônicos em: **ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA**. Campinas: Galoá,, 2017. Disponível em: <https://proceedings.science/zootec/papers/degradabilidade-in-situ-da-materia-seca-e-fibra-em-detergente-neutro-de-pereskia-aculeata-miller--ora-pro-nobis->

MEDEIROS, F.F. et al. Fontes Proteicas Alternativas oriundas da cadeia produtiva do biodiesel para alimentação de ruminantes. **Arq. Bras. Med. Vet.**, 2015, v. 67, n. 2, p.519-526. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-7703>.

MORAES, T. V. et al. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Miller: UMA ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, 2018, v. 22, p. 19-23.

NAGATA, M., YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea**, 1992, n.39, v.10, p. 514-523

OLIVEIRA, V.S. et al. Utilização da Técnica de Produção de gás In Vitro para Estimar a Digestibilidade dos Alimentos. **REVISTA CIENTÍFICA DE MEDICINA VETERINÁRIA**, 2014, v. 12, n. 23. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/JTUI0Psv3inv5qw_2014-7-27-16-56-54.pdf.

PAULUCIO, V.A. et al. CARTILHA PARA AGRICULTORES: PRODUÇÃO DE SEMENTES E MUDAS COMO FONTES PROTEICAS ALTERNATIVAS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. Alegre, ES : **CAUFES**, 2014, 24 https://zootecnia.alegre.ufes.br/sites/zootecnia.alegre.ufes.br/files/field/file/cartilha_formato_online.pdf.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, 1999, n.26, p.1231–1237.

RODRIGUES et al. Chemical and nutritional characterization of the ora-pro-nobis flour (*Pereskia aculeata* Mill.). **Revista FAEF**, Garça, 2014, v. 26. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/site/e/agronomia-26-edicao-dezembro-de-2014.html#tab1142>.

SANTOS, L.S. et al. Cactaceas do gênero *Pereskia*: composição nutricional e algumas aplicações. **ForScience**, 2021 Formiga, v. 9, n. 2, e00702 DOI: 10.29069/forscience.2021v9n2.e702

SILVA, L.W. Potencial tecnológico da folha da *Pereskia aculeata* Miller (ora-pronóbis): Uma Revisão. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO TECNOLÓGICO DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS, 2019. Tcc (Trabalho de conclusão de curso). Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/199740/TCC%20LARISSA%20WAIN%20STEIN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

SINGLETON, V. L., & ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, 1965, v.16, n.3, p.144-158.

SOUZA, R.M.F. et al. Atividade antioxidante de extrato de folhas de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) usando métodos espectrofotométricos e voltamétricos *in vitro*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, 2014. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/19618>.

SOUZA, M., R., M. Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) como alternativa promissora para produção de proteína: densidade de plantio e adubação nitrogenada. Viços: MG, 2013, v.89 Disponível em: <https://locus.ufv.br/handle/123456789/18746>

STIPP, S. R, CASARIN, V. A importância do enxofre na Agricultura Brasileira. **Informações Agronomicas**, 2010, n.129. Disponível em: http://www.pollifertilizantes.com.br/artigo_enxofre.pdf.

TAKEITI, C. et al. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 2009, v. 60, n. SUPPL. 1, p. 148–160. doi:10.1080/09637480802534509

TEIXEIRA, A.G. et al. Interference of weeds on Barbados gooseberry initial development. **Horticultura Brasileira**, 2021, n. 39, p. 155-160. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-0536-20210205>.

TILLEY, J. M. A., TERRY, R. A. A twostage technique for the in vitro digestion of forage crop. **Journal British Grassland Society**, 1963, v. 18, n. 2, p. 104-111.

TIWARI, P. et al. Phytochemical screening and extraction: a review. **Int Pharm Sci**, 2011; v.1, n.1, p.98-106.

TRENTIN et al. Nutritional and rheological evaluation of blends based on ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) and wheat flour. **Research, Society and Development**, 2020, v.9, n.11. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i119728>.

VIEIRA, D.G et al. Composição química e digestibilidade *in vitro* da *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nóbis). Nos anais eletrônicos de: **ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA**. Campinas: Galoá, 2017. Disponível em: <https://proceedings.science/zootec/papers/composicao-quimica-e-digestibilidade-in-vitro-da-pereskia-aculeata-miller--ora-pro-nobis-?lang=pt-br> .

ANEXO A- INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA RESEARCH JOURNAL OF PHARMACEUTICAL, BIOLOGICAL AND CHEMICAL SCIENCES

Author's Guideline

We are delighted to invite Eminent Scientists, Academicians and Researchers to submit their original research articles for publication in Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences on line journal on the aspects of "Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences" for an effective scientific reading and public view with an aim to reach the world wide researchers.

"RJPBCS takes responsibility of in time publication of the Manuscript abide by the journal policy".

RJPBCS hopes that Researchers, Research scholars, Academician, Industrialists, Consultancy etc. would make use of this journal publication for the development of science and technology.

All components of the manuscript must appear within a single electronic file: references, figure legends and tables must appear in the body of the manuscript.

Original Research papers : Full length research manuscripts are considered for their publication provided they are not previously published elsewhere either in part or full or in any other form (electronic or printed) that represent a significant portion of the research work except in a preliminary form of an abstract in scientific conferences.

Short Communications : Précised scientific data that has emerged as part of a major scientific investigation that are really novel/original, are published in the form of short communications. These include notes on methods or preliminary investigations of immediate interest and are likely to have a high impact of immediate scientific interest. Short Communications should also be documented with all the relevant information that is applicable to a research paper such as the format, tables, figures and references.

Review Articles : Major review articles are published on the subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. The review articles without descriptions relevant to the subject of interest are not entertained.

Peer review process: All original research papers, short communications and review articles will be sent to at least two national reviewers for their comments. On receipt of their comments the same will be communicated to the authors for their corrections before publication. All the authors are requested to submit a list of reviewers in their respective field of specializations with their full correspondence address and email address.

Consent to publish: Consent to publish in this journal entails the author's irrevocable and exclusive authorization for publication inclusive of copy right.

Submission of Manuscript: The journal publishes all the accepted manuscripts using electronic production methods, and therefore needs to receive all the submissions in MS Word electronic format. All the electronic files can be submitted as either individual files or in ZIP format. Manuscript should be separated into text, tables and figures in to different files and can be sent as separate attached files. Larger files can be splitted in to smaller files before their submission. Submit manuscript to editor.rjpbcs@gmail.com/editor@rjpbcs.com).

Preparation of Manuscript: The manuscripts should be typed in 1.5 spacing with wide margins using 12 point font size of "Times New Roman". Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission. Manuscripts that do not conform to standard English style, usage and grammer, will be returned to authors for modification prior to scientific review. Editor reserves the privilege of returning such manuscripts to the authors for revision before acceptance. Manuscripts should contain the following in sequence: Title, Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Experimental, Results and Discussion, Conclusions and Acknowledgements. Figures and tables should be separated from the main manuscript and should be clearly indicated in the text. The biological species names should be presented in italics and the chemical names without first letter caps.

Title: Title page should contain title of the paper in bold face, title case (font size 14), names of the authors in normal face, upper case (font size 12) followed by the address(es) in normal face lower case. An asterisk (*) must be placed after the corresponding authors name as superscript whose email id, fax, telephone number can be given at the bottom left corner of the title. Corresponding author has the responsibility to ensure that all co authors are aware and approve the contents of the submitted manuscript.

Abstract: Precise and explicitly written abstract should not exceed more than 200 words. This section should start on a new page and should detail the problems, experimental approach, major findings and conclusion in one paragraph and should appear on the second page. Avoid abbreviation, diagram and references in the abstract. It should be single - spaced, Precise and explicitly written abstract should not exceed more than 200 words.

Key words: There should be minimum four key words for each manuscript and should not exceed six maximum.

Text: The text of the manuscript should be written in easily understandable format with the Capitalized main titles.

Tables: Arrange the tables in chronological order as given in the text. Each table should be numbered according to their sequence as given in the text. All the tables should be presented in a separate file or folder and should not be part of the text. Title of the table should be clear and short. Table numbers should be given in 1,2,3 letters. The explanations if any essentially required to understand the table can be given as a footnote at the bottom of the respective table. If an individual table contains too much of data attempts should be made to split in to

multiple tables. Also note the description of the contents of the table in text part should be in brief highlighting the important findings. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of SI units of measurement should be added in parentheses wherever they are in need.

Illustrations: All illustrations (line drawings and photographs) should be submitted separately. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should be made in the text to each illustration. Each illustration should be identified by its number. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%. Make sure that the size of the lettering is big enough to allow a reduction of 50%. The final font size in printing should be about 6-8pt. Authors wishing to include figures or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors. Quantities and units must be designated using SI units wherever possible (e.g. Pa instead of bar). The metric system is to be used. Numerical values of quantities are given with decimal points (e.g. $U = 112.35 \text{ V}$). Concentrations should be given exclusively as mass or amount-of-substance concentrations mg/Kg or $\mu\text{g/L}$. The use of ppm, ppb, ppt, volume and weight percentages is to be avoided. IUPAC rules must be used for designating chemical compounds. In some fields, e.g. pharmacology, International Non-Proprietary Names (INN) or generic names may be used. The use of trade names alone to identify such compounds, e.g. drugs, medicines or pesticides, is not allowed. All formulas, equations, and symbols should be consistently formatted through the whole paper, including figures.

References: References should be referred to a number [1] in the text and be listed according to this numbering at the end of the paper. The references should comprise the following information and in the given order and with given punctuation as given in the example below: Author name (s) Initials (s), Publication Title Year of Publication; Issue: Page number.

For journal reference: Thabrew MI, Gove CD, Hughes RD, McFarlane IG, Williams R. J Ethnopharm 1995; 49: 69-76.

For Book reference: Boulos L. Medicinal Plants of North Africa. Reference Publications, Algonac, MI, 1983, pp. 103-105.

Copyright: Submission of the manuscript represent that the manuscript has not been published previously and is not considered for publication elsewhere. Authors would be required to sign a CTA form (Copy Right Transfer Agreement) once the manuscript is accepted. The corresponding author can download the form and after getting authors and co-authors signature it can be send as an attachment file after scanning to the journal e-mail with the processing charges.

Ethical Matters: Authors involving in the usage of experimental animals and human subjects

in their research article should seek approval from the appropriate Institutional Animal Ethics committee in accordance with "Principles of Laboratory Animal Care". The Method section of the manuscript should include a statement to prove that the investigation was approved and that informed consent was obtained.

Manuscript Charges: Each accepted paper is required to pay the processing charges before the accepted paper is published.

Proofs: Proofs will be sent to the corresponding author as given on the title page of the manuscript. Only typesetter's errors may be corrected; no changes in, or additions to, the edited manuscript will be allowed.

Publication: Papers will normally be published in order of acceptance by the editors, quickly as soon as the corrected electronic manuscripts are received. The details of the published paper (s) will be communicated to the corresponding author.

Declaration: While submitting the manuscript the corresponding author (on behalf of all the authors) should declare that the manuscript is original and is not published or communicated for publication elsewhere either in part or full. Without the declaration the manuscripts are not considered for their publication.

Disclaimer: No responsibility is assumed by the publisher for any injury and/or damage to persons or property as a matter of products liability, negligence or otherwise, or from any use or operation of any methods, products, instructions or ideas contained in the material herein. The respective individual author(s) are responsible for the facts and views expressed in their articles.

ANEXO B - INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA CIÊNCIA RURAL

Objetivo e política editorial

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

Preparação de originais

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados **preferencialmente em idioma Inglês**. Os encaminhados em Português poderão ser traduzidos após a 1º rodada de avaliação para que ainda sejam revisados pelos consultores ad hoc e editor associado em rodada subsequente. Entretanto, caso **não traduzidos** nesta etapa e se **aprovados** para publicação, terão que ser **obrigatoriamente traduzidos para o Inglês** por empresas credenciadas pela Ciência Rural e obrigatoriamente terão que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir tramitação na CR.

Empresas credenciadas:

- American Journal Experts (<http://www.journalexerts.com/>)
- Bioedit Scientific Editing (<http://www.bioedit.co.uk/>)
- BioMed Proofreading (<http://www.biomedproofreading.com>)
- Edanz (<http://www.edanzediting.com>)
- Editage (<http://www.editage.com.br/>) 10% discount for CR clients. Please inform Crural10 code.
- Enago (<http://www.enago.com.br/forjournal/>) Please inform CIRURAL for special rates.
- GlobalEdico (<http://www.gloaledico.com/>)
- JournalPrep (<http://www.journalprep.com>)
- Paulo Boschcov (paulo@bridgetextos.com.br, bridge.textecn@gmail.com)
- Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com/pt/>)
- Readytopub (<https://www.readytopub.com/home>)

O trabalho após tradução e o respectivo certificado devem ser enviados para: rudiweiblen@gmail.com

As despesas de tradução serão por conta dos autores. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será **15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras**. Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e **nem estar com apresentação paisagem**. **Tendo em vista o formato de publicação eletrônica estaremos considerando manuscritos com páginas adicionais** além dos limites acima. No entanto, os trabalhos aprovados que possuírem páginas além do estipulado terão um custo adicional para a publicação (*vide taxa*).

3. O artigo científico (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes

tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses.

Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

4. A revisão bibliográfica (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

5. A nota (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

6. O preenchimento do campo "**cover letter**" deve apresentar, obrigatoriamente, as seguintes informações em inglês, **exceto** para artigos **submetidos em português** (lembrando que preferencialmente os artigos devem ser submetidos em inglês).

- a) What is the major scientific accomplishment of your study?
- b) The question your research answers?
- c) Your major experimental results and overall findings?
- d) The most important conclusions that can be drawn from your research?
- e) Any other details that will encourage the editor to send your manuscript for review?

Para maiores informações acesse o seguinte [tutorial](#).

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. Nesse [link](#) é disponibilizado o **arquivo de estilo** para uso com o

software **EndNote** (o EndNote é um software de gerenciamento de referências, usado para gerenciar bibliografias ao escrever ensaios e artigos). Também é disponibilizado nesse [link](#) o **arquivo de estilo** para uso com o software **Mendeley**.

11. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

11.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

11.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

11.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

11.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests **Tribolium confusum** (Coleoptera: Tenebrionidae), **Tenebrio molitor** (Coleoptera: Tenebrionidae), **Sitophilus granarius** (Coleoptera: Curculionidae) and **Plodia interpunctella** (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Available from:

<[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Accessed: Mar. 18, 2002. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Response of **Sitophilus oryzae** (L.), **Cryptolestes ferrugineus** (Stephens) and **Oryzaephilus surinamensis** (L.) to different concentrations of diatomaceous earth in bulk stored wheat. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Available from:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2009. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

SENA, D. A. et al. Vigor tests to evaluate the physiological quality of corn seeds cv. 'Sertanejo'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 3, e20150705, 2017.

Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300151&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2017. Epub 15-Dez-2016. doi: 10.1590/0103-8478cr20150705 (Artigo publicado eletronicamente).

11.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20). (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

11.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).
 GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Online. Available from:
 <<http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>>. Accessed: Mar. 18, 2005 (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).
 UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Online. Available from: <<http://www.zh.com.br/especial/index.htm>>. Accessed: Mar. 18, 2001(OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).
 ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Online. Available from: <<http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>>. Accessed: Mar. 18, 2007.
 MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

12. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

13. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

14. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro

expediente poderá ser utilizado.

15. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

17. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

19. Todos os artigos encaminhados devem pagar a taxa de tramitação. Artigos reencaminhados (**com decisão de Reject and Resubmit**) deverão pagar a taxa de tramitação novamente. Artigos arquivados por **decurso de prazo** não terão a taxa de tramitação reembolsada.

20. Todos os artigos submetidos passarão por um processo de verificação de plágio usando o programa “Cross Check”.

Critérios de avaliação

Todos os trabalhos submetidos são inicialmente examinados pela equipe CR, comitê editorial e de área e então enviados a dois avaliadores ad hoc no mínimo. As revisões são submetidas normalmente para três consultores ad hoc.