

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS
MESTRADO

MARIA ELIZÂNGELA FERREIRA ALVES

EFEITO DO CONSUMO DE IOGURTE CAPRINO ADICIONADO DE PÓ DE
PALMA (*Oputia Ficus-Indica*) SOBRE PARÂMETROS FÍSICOS, BIOQUÍMICOS E
METABOLÔMICA SÉRICA DE RATOS

JOÃO PESSOA, PB
2024

EFEITO DO CONSUMO DE IOGURTE CAPRINO ADICIONADO DE PÓ
DE PALMA (*Oputia Ficus-Indica*) SOBRE PARÂMETROS FÍSICOS,
BIOQUÍMICOS E METABOLÔMICA SÉRICA DE RATOS

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Ciência e Tecnologia
dos Alimentos, Universidade Federal da
Paraíba em cumprimento aos requisitos
para obtenção do título de Mestre em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: DR^a.: Juliana Késsia Barbosa Soares
Co-Orientadora: DR^a.: Jailane de Souza Aquino

JOÃO PESSOA, PB
2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A474e Alves, Maria Elizângela Ferreira.

Efeito do consumo de iogurte caprino adicionado de pó de palma (Oputia Ficus-Indica) sobre parâmetros físicos, bioquímicos e metabolômica sérica de ratos / Maria Elizângela Ferreira Alves. - João Pessoa, 2024.
84 f. : il.

Orientação: Juliana Késsia Barbosa Soares.

Coorientação: Jailane de Souza Aquino.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Iogurte caprino. 2. Oputia Ficus-Indica. 3. Ácidos graxos. 4. Compostos bioativos. 5. Peroxidação lipídica. 6. Composição corporal. I. Soares, Juliana Késsia Barbosa. II. Aquino, Jailane de Souza. III. Título.

UFPB/BC

CDU 637.14:636.39(043)



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Tecnologia



Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aos dezesseis dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e quatro, de forma híbrida, às 9h, reuniu-se a Banca Examinadora composta pela Profa. Dra. Juliana Késsia Barbosa Soares, orientadora do trabalho e presidente da Banca, Dra. Fabricia França Bezerril (Membro Interno/UFPB) e a Profa. Dra. Marília Ferreira Frazão Tavares de Melo (Membro Externo à Instituição/UFCG). A reunião teve por objetivo julgar o trabalho da discente **Maria Elizângela Ferreira Alves**, matrícula nº 20221005786, sob o Título "Impacto do consumo de iogurte caprino adicionado de pó Palma (*Opuntia Ficus-Indica*) sobre parâmetros metabolômicos, físicos e bioquímicos de ratos.". Os trabalhos foram abertos pela Profa. Dra. Juliana Késsia Barbosa Soares. A seguir foi dada a palavra à estudante para apresentação do trabalho. Cada Examinador(a) arguiu a mestranda, com tempos iguais de arguição e resposta. Terminadas as arguições, procedeu-se ao julgamento do trabalho, concluindo a Banca Examinadora por sua APROVAÇÃO. Atendidas as exigências da Resolução nº 15/2019/CONSEPE que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, e nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente Ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora e pela mestranda.

João Pessoa, 16 de fevereiro de 2024.

Se houver alteração no título do trabalho, informar o novo título abaixo:

Efeito do consumo de iogurte caprino adicionado de pó de palma (OFI) sobre parâmetros físicos, bioquímicos e metabolômicos do Soro de ratos.

Profa. Dra. Juliana Késsia Barbosa Soares
Orientadora e Presidente

Maria Elizângela Ferreira Alves
Mestranda

Profa. Dra. Marília Ferreira Frazão Tavares de Melo
Membro Externo à Instituição/UFCG

Dra. Fabricia França Bezerril
Membro Interno/UFPB

O Senhor é a minha força e o meu escudo; nele o meu coração confia, e dele recebo ajuda.
Meu coração exulta de alegria, e com o meu cântico lhe darei graças".

- Salmos 28:7

**À Deus,
DEDICO!**

AGRADECIMENTOS

À Deus, que esteve comigo em todos os momentos, que trouxe afago, direcionamento e sustento. Por nunca ter deixado eu me sentir sozinha. Agradeço pela graça, pelo cuidado que ele teve para comigo em todos os momentos e por me permitir ter realizado este sonho. Gratidão!

À minha mãe, Ivanilda e ao meu pai, Everaldo. Obrigada por sonharem comigo, estarem me apoiando e orando por mim. Aos meus irmãos, Edson e Êmerson, por me apoiarem e estarem me incentivando sempre, e especialmente, à minha irmã, Eliane, agradeço por me incentivar, por ser combustível quando preciso lembrar por quem e pelo quê devo continuar. Amo vocês com todas as minhas forças, além de mim, é por vocês tudo o que faço.

Aos meus avós, Licinha, Novinho, Lurdes e Aloisio, obrigada por me incentivarem e cuidarem de mim mesmo de longe, aos meus tios, Laura, Tonha, Antonio neto, Riany e Ivoneide (*In memoriam*), aos demais tios e primos. Vocês contribuíram de forma indescritível para o meu crescimento pessoal e acadêmico. Agradeço pelo cuidado, pelo apoio psicológico e financeiro, toda ajuda de vocês será recompensada. Amo todos vocês.

Aos amigos que construí durante toda a caminhada, Elen, Fabricia, Januse, Jéssica, Maria Carla e Rita de Cássia. Há amigos mais chegados que irmãos e vocês deixam minha caminhada mais leve e tornaram ela menos difícil, cada risada, momento de descontração foi importante. Obrigada pelo cuidado, zelo, carinho e dedicação. Amo vocês!

Agradeço à minha companheira de pesquisa, Larissa Dutra, você foi e tem sido importante para todo conhecimento adquirido, obrigada pela ajuda, apoio e zelo pela nossa pesquisa, você é muito importante.

À equipe do LANEX-UFCG, Jaciel, Renally, Natália, Bruno. Obrigada pela ajuda, pelos conhecimentos partilhados, pelo apoio e dedicação quando foi necessário, a nossa equipe é forte como é por que vocês estão nela.

À minha banca de qualificação, professora Dra. Marília Frazão e Professor Dr. Fábio Silva, e à banca de defesa, professora Dra. Marília Frazão e Dra. Fabricia França. Cada consideração e sugestão que fizeram foi importante para melhora e construção da minha dissertação e artigo.

Agradeço a minha coorientadora, Jailane Aquino. Suas considerações são de muita valia, seu cuidado e foram muito importantes para o bom desenvolvimento e sucesso da pesquisa que desenvolvemos.

À minha orientadora, Juliana Késsia. A senhora é muito importante! Agradeço pelo conhecimento compartilhado comigo, por apoiar o meu sonho, por cuidar e orar por mim sempre que preciso de cuidado e apoio. A senhora, além de orientadora, é uma amiga, tem um cuidado de mãe com seus alunos, comigo não foi diferente, e isso foi e têm sido importante tanto para o meu crescimento, como para me fortalecer e me manter firme nessa jornada acadêmica.

A todos os laboratórios que fizemos parcerias, vocês contribuíram para o desenvolvimento de uma pesquisa extremamente relevante. MUITÍSSIMO OBRIGADA!

RESUMO

O leite caprino tem sido estudado há muitos anos, pois é mais hipoalergênico do que o leite bovino, além disso apresenta um perfil lipídico diferenciado, estando presente em sua composição os ácidos graxos de cadeia média que trazem benefícios já consolidados por diversas pesquisas. No entanto, há uma resistência ao consumo do leite caprino e seus derivados, pelos odores característicos dessa matriz. Para tentar solucionar essa problemática, a adição de vegetais torna-se um atrativo. Nesse sentido, PANCs, como a *Opuntia ficus-indica* (OFI) torna-se uma alternativa, pois é uma cactácea rica em compostos bioativos, e, além de agregar sabor, agrega maior valor nutricional a estes produtos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito do iogurte caprino, adicionado de pó de OFI, sobre os parâmetros físicos, bioquímicos e metabólica do soro de ratos. Ratos machos foram distribuídos em 3 grupos (n=10): grupo controle (GC); grupo iogurte caprino (GY); grupo iogurte caprino adicionado de pó de OFI (CGY). Os grupos foram tratados com 2ml da solução de iogurte adicionado ou não do cacto ou água durante 30 dias. Os animais do grupo CGY consumiram mais ração na primeira semana do experimento, em comparação aos demais grupos. No peso corporal, o grupo CGY apresentou aumento, quando comparado aos demais grupos. Na avaliação física, observamos que na relação das circunferências abdominal/torácica, houve aumento no grupo CGY, quando comparado aos demais grupos. Analisando a abundância relativa de gordura corporal, houve um aumento significativo da gordura total, mesentérica e retroperitoneal nos animais do grupo CGY comparando com CG e GY. Já no índice de adiposidade (IA) e risco coronariano (CRI), observamos um risco aumentado no grupo CGY quando comparado aos demais grupos. Os níveis de LDL-c foram menores nos grupos CGY e GY quando comparados ao CG. Já na glicemia plasmática, os grupos CGY e GY apresentaram maior concentração, comparando com o controle. Já nas enzimas hepáticas, observamos um aumento na transaminase oxalacética nos grupos CGY e GY quando comparados ao controle. Houve um aumento no colesterol e triglicérideo hepático e uma redução do colesterol e triglicérides fecal nos grupos CGY e GY, quando comparados ao controle. A concentração de MDA hepático do grupo GY foi menor, quando comparado aos demais grupos, enquanto o grupo CGY não diferiu do grupo controle. Na RMN, identificamos 33 metabólitos que se destacam como potenciais biomarcadores de vias bioquímicas que contribuíram para a tendência de agrupamento entre os grupos. Estes resultados indicam que o iogurte caprino reduziu a peroxidação lipídica e aumentou a deposição de PUFAS no fígado, além de não alterar parâmetros físicos e bioquímicos, no entanto, quando esse iogurte é adicionado de pó de OFI, temos uma reversão desses efeitos, com aumento na deposição de gorduras corporais, risco coronariano e

adiposidade e glicose plasmática. No entanto, tanto o grupo GY como o CGY induziram alterações no fígado. Tais resultados demonstram que o consumo de pó de palma, aliado ao iogurte caprino não impactaram de forma benéfica no metabolismo vivo. Entretanto, novos estudos precisam ser desenvolvidos para elucidar os mecanismos de ação das alterações apresentadas neste estudo.

Palavras-chave: ácidos graxos; compostos bioativos; peroxidação lipídica; composição corporal.

ABSTRACT

Goat milk has been studied for many years, as it is more hypoallergenic than bovine milk, and also has a different lipid profile, with medium-chain fatty acids present in its composition, which bring benefits already consolidated by several studies. However, there is resistance to the consumption of goat milk and its derivatives, due to the characteristic odors of this matrix. To try to solve this problem, the addition of vegetables becomes an attraction. In this sense, PANCs, such as *Opuntia ficus-indica* (OFI) become an alternative, as it is a cactus rich in bioactive compounds, and, in addition to adding flavor, it adds greater nutritional value to these products. The objective of this research was to evaluate the effect of goat yogurt, added with OFI powder, on the physical, biochemical, and metabolomic parameters of rat serum. Male rats were distributed into 3 groups (n=10): control group (CG); goat yogurt group (GY); and goat yogurt group added with OFI powder (CGY). The groups were treated with 2ml of yogurt solution with or without cactus or water for 30 days. Animals in the CGY group consumed more food in the first week of the experiment, compared to the other groups. In body weight, the CGY group showed an increase when compared to the other groups. In the physical assessment, we observed that in the ratio of abdominal/chest circumferences, there was an increase in the CGY group, when compared to the other groups. Analyzing the relative abundance of body fat, there was a significant increase in total, mesenteric, and retroperitoneal fat in animals in the CGY group compared to CG and GY. Regarding adiposity index (AI) and coronary risk (CRI), we observed an increased risk in the CGY group when compared to the other groups. LDL-c levels were lower in the CGY and GY groups when compared to the CG. Regarding plasma glycemia, the CGY and GY groups presented higher concentrations, compared to the control. Regarding liver enzymes, we observed an increase in oxaloacetate transaminase in the CGY and GY groups when compared to the control. There was an increase in hepatic cholesterol and triglycerides and a reduction in fecal cholesterol and triglycerides in the CGY and GY groups when compared to the control. The hepatic MDA concentration in the GY group was lower when compared to the other groups, while the CGY group did not differ from the control group. In NMR, we identified 33 metabolites that stand out as potential biomarkers of biochemical pathways that contributed to the clustering tendency between the groups. These results indicate that goat yogurt reduced lipid peroxidation and increased the deposition of PUFAS in the liver, in addition to not altering physical and biochemical parameters. However, when this yogurt is added with OFI powder, we have a reversal of these effects, with an increase in the deposition of body fats, coronary risk adiposity, and plasma

glucose. However, both the GY and CGY groups induced changes in the liver. These results demonstrate that the consumption of palm powder combined with goat yogurt did not have a beneficial impact on living metabolism. However, new studies need to be developed to elucidate the mechanisms of action of the changes presented in this study.

Keywords: fatty acids; bioactive compounds; lipid peroxidation; body composition.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Delineamento da pesquisa.....	29
Figura 2: Peso e consumo de animais que consumiram ou não iogurte caprino adicionado de pó de OFI.....	55
Figura 3: Perfil lipídico e glicêmico de animais que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI.....	57
Figura 4: Enzimas renais de animais que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de OFI	58
Figura 5: Enzimas hepáticas de animais que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI.....	58
Figura 6: Concentrações de colesterol e triglicérides hepático e fecal de animais que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI.....	59
Figura 7: Concentração de malondialdeído hepático de animais que consumiram iogurte adicionado ou não de pó de OFI.....	63
Figura 8: Espectro representativo de 400 MHz ¹ HNMR do soro de animais que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI.....	64
Figura 9: Análises PCA de soro de animais que consumiram iogurte adicionado ou não de pó de OFI com base em integrais de binning de espectros de ¹ HNMR.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização dos Iogurtes.....	49
Tabela 2 – Parâmetros físicos de animais que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI.	56
Tabela 3 – Perfil de ácidos graxos do fígado e fezes de animais que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de OFI	61
Tabela 4 – Atribuições de ressonância de metabólitos em espectros de RMN de ¹ H.....	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Visão Geral de estudos que investigaram os efeitos de compostos bioativos em <i>in vivo</i>	17
---	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA: Ácido aracdônico
AC: Circunferência abdominal
AcAc: Acetoacetato
AG: Ácidos graxos
AMPK- α : Proteína quinase α ativada por AMP
CEUA: Comitê de ética no uso animal
CG: Grupo controle
CGY: Iogurte Caprino com cacto
COX: Cicloxigenase
CRI: Índice de Risco coronariano
CVRI: Índice de Risco cardiovascular
DHA: Ácido docosahexaenoico
HDL: Lipoproteína de alta densidade
GY: Iogurte Caprino
IA: Índice de adiposidade
IMC: Índice de massa corporal
LDL- Lipoproteína de baixa densidade
LOX: Lipoxigenase
MDA: Malondialdeído
MUFA: Monoinsaturados
OFI: *Opuntia ficus-indica*
PANC: Planta alimentícia não convencional
PUFA: Poliinsaturados
TC: Circunferência torácica
RMN: Ressonância magnética nuclear
SFA: Saturados
UFCG: Universidade Federal de Campina Grande
UFPE: Universidade Federal do Pernambuco
TG: Triglicérides
2HB: 2-Beta-hidroxibutirato.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS	12
2.2 LEITE CAPRINO.....	12
2.2.1 Iogurte caprino.....	13
2.3 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC)	14
2.3.1 Cladódio de Palma (<i>Opuntia Ficus-indica</i>) e benefícios.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 AMOSTRA.....	17
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	17
3.3 PROCESSAMENTO DO PÓ DE OFI	18
3.4 ELABORAÇÃO DO IOGURTE CAPRINO	18
3.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS IOGURTES.....	19
3.6 ENSAIO BIOLÓGICO.....	20
3.6.1 Peso corporal e consumo alimentar dos animais.....	20
3.7 EUTANÁSIA	21
3.8 AVALIAÇÃO FÍSICA.....	21
3.9 ANÁLISE BIOQUÍMICAS.....	29
3.10 ANÁLISES DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS TECIDUAIS	33
3.10.1 Coleta dos tecidos.....	30
3.10.2 Transesterificação dos ácidos graxos.....	30
3.9.3 Análise cromatográfica gasosa	30
3.11 METABOLÔMICA DO SORO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) DE ¹ H.....	31
3.12 PERFIL LIPÍDICO GLICÊMICO E ENZIMAS HEPÁTICAS E RENAI.....	32
3.13 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE COLESTEROL, TRIGLICÉRIDES E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO FÍGADO E FEZES	32
3.14 CONCENTRAÇÃO DE MALONDIALDEÍDO (MDA) HEPÁTICO.....	33
3.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
REFERÊNCIAS	34
ARTIGO 1.....	42
PÓ DE CACTO (<i>Opuntia Ficus-indica</i>) ADICIONADO AO IOGURTE CAPRINO: IMPACTO DO SEU CONSUMO NOS PARÂMETROS FÍSICOS E NA METABOLÔMICA SÉRICA EM RATOS.	33

RESULTADOS	54
CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS	74
ANEXO 1	82

1 INTRODUÇÃO

A busca por hábitos de vida mais saudáveis vem crescendo cada vez mais em todo o mundo, isso aumentou a procura por alimentos com propriedades funcionais (GUO, 2020; TIAN *et al.* 2022). O leite de cabra e os produtos base deste, principalmente o iogurte, tornam-se alimentos atrativos pelas suas características hipoalergênicas, funcionais e conteúdo lipídico. No entanto, estes produtos possuem baixa aceitação devido a presença dos ácidos cáprico, caprílico e capróico, que são responsáveis pelo sabor e aroma característicos do leite de cabra (PAN, *et al.* 2019; FENG *et al.* 2019; SANTIS, *et al.* 2019; GUO, 2020; WEI *et al.* 2021).

A adição de agentes de sabor, pode aumentar a aceitabilidade, o valor nutricional e funcionalidades desses produtos (PARK, *et al.*, 2019; FENG *et al.*, 2019), além de vegetais, as plantas alimentícias não convencionais (PANCs), como a Palma (*Oputia ficus-indica*), se mostra um promissor ingrediente para ser adicionado ao iogurte caprino (BEZERRIL *et al.*, 2021).

As PANCs são espécies alimentícias com notável potencial alimentar, no entanto, não são amplamente consumidas pela população (LEAL, ALVES e HANAZAKI, 2018).

A Palma (*Oputia ficus-indica*) é uma cactácea, nativa da Caatinga, no Brasil, presente na região nordeste (ARAÚJO, *et al.*, 2021). Apresenta alto valor nutricional, contendo elevadas quantidades de carboidratos, minerais, compostos bioativos e fibras alimentares (VIEIRA, *et al.*, 2021). Dentre os compostos bioativos, os fenólicos e antioxidantes, destacam-se, pois trazem benefícios à saúde, reduzindo o aparecimento de doenças (SANTOS, *et al.*, 2021).

Dentre as funcionalidades dos compostos antioxidantes, destaca-se o combate aos radicais livres, responsáveis por danos celulares que promovem o desenvolvimento de cascatas inflamatórias no organismo humano, e o desenvolvimento de doenças (MAGALHÃES; SANTOS, 2021; MORAIS, *et al.*, 2022). No combate aos radicais livres, estas substâncias atuam neutralizando sua formação e evitando o surgimento de processos inflamatórios (ONTARIANO, *et al.*, 2022).

Estudos com animais, especialmente com ratos, mostram que esses compostos bioativos e antioxidantes, presentes nas PANCs, especialmente as cactáceas, desempenham diversos benefícios no organismo vivo, como capacidade de reduzir peroxidação lipídica cerebral e comportamento ansioso (Moura *et al.*, 2023), apresentar atividade neuroprotetora cerebral (Farag *et al.*, 2017), imunoprotetora (Smida *et al.*, 2017) e auxiliar no tratamento da obesidade (Sirotkin 2022).

Além dos compostos bioativos, outro componente que se apresenta em grandes quantidades na maioria das PANCs, são as fibras alimentares solúveis e insolúveis (ALVES, CONSTANT e TELES, 2021). Estas, quando ingeridas, atuam aumentando a saciedade, reduzindo a absorção de gorduras saturadas, promovendo assim uma redução de massa corpórea e atuando no controle da obesidade (GODARD, et al., 2010; PEREIRA, *et al.*, 2013).

Diversos métodos analíticos estão sendo aplicados para responder os resultados obtidos em pesquisas *in vivo*, como a Metabolômica, que é uma ciência ômica que tem o intuito de identificar e estudar os metabólitos ou produtos de metabolismo em fluidos corporais ou tecidos, e podem indicar possíveis vias dos resultados obtidos (Zakaria et al. 2023)

Desta forma, o estudo justifica-se pela necessidade de incentivar a oferta de lácteos caprinos e das PANCs, avaliando o efeito do consumo a partir da elaboração de um iogurte caprino adicionado de pó de palma, sobre os parâmetros físicos, bioquímicos e metabólomicos, sobre os níveis séricos de ratos jovens. Para isso, nosso objetivo é avaliar o efeito do consumo do iogurte caprino adicionado de pó de palma nos parâmetros físicos e bioquímicos de ratos jovens.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

A crescente conscientização da população acerca de hábitos saudáveis, visando a melhoria da qualidade e a expectativa de vida, fez com que a procura por alimentos com potencial funcional, que desempenhe algum efeito benéfico no organismo humano, aumentasse em todo mundo (SALGADO, 2017; SHARMA, RAO e SHIGH, 2021). Alimentos funcionais são aqueles que possuem em sua composição nutrientes que apresentem funções benéficas à saúde humana, como a redução do desenvolvimento de doenças (PAUDEL, et al., 2021).

Os alimentos funcionais desempenham benefícios à saúde através de constituintes presentes em sua composição, esses constituintes são chamados compostos bioativos ou peptídeos bioativos (GUAADAQUI, et al., 2014), estes possuem a capacidade de interagir com qualquer tecido vivo do organismo humano, propiciando os efeitos potenciais funcionais e biológicos desses alimentos (SHETTY e SARKAR, 2019; BANWO, et al., 2021). Estes alimentos são derivados principalmente de plantas, frutas, vegetais, animais e microrganismos (TONDT e BAYS, 2022).

Os peptídeos bioativos são nutrientes presentes em matrizes alimentares, que possuem o poder de interferir de diferentes maneiras no organismo, (Teodoro, 2019), que possuem a capacidade de atenuar os mecanismos de desenvolvimento, prevenção e tratamento de doenças sua atuação no organismo vai diferir e depender da estrutura, composição e sequência (Chandimali et al., 2024). Estudos mostram que os peptídeos bioativos, presentes em diferentes matrizes alimentares podem atuar de diversas formas no organismo, como desenvolvendo ação antiobesidade, antidiabética, hipolipemiante, antioxidantes, anti-hipertensiva, anti-inflamatória entre outras. No quadro 1 estão dispostos alguns estudos que mostram os efeitos destes compostos *in vivo*.

Quadro 1 – Visão Geral de estudos que investigaram os efeitos de compostos bioativos em *in vivo*.

REFERÊNCIA	OBJETIVO DO ESTUDO	MATRIZ ALIMENTAR	INTERVENÇÃO	RESULTADOS DE INTERESSE
Tsai et al. (2020)	O objetivo deste estudo foi analisar os potenciais efeitos protetores dos peptídeos da batata no dano renal induzido por hipertensão em rato espontaneamente hipertenso.	Batata alcalase	10 mg/kg de peso corporal	O peptídeo bioativo da batata exerceu potenciais efeitos protetores contra danos renais mediados por ROS associados à hipertensão através da via antioxidante dependente de Nrf2 ao longo dos eixos DJ-1 e AKT. Comprovando assim, efeitos terapêuticos promissores no dano renal associado à hipertensão.
Chatterjee et al. (2017)	Avaliar o efeito das proteínas da soja com depleção de diferentes subunidades das duas principais proteínas (peptídeos bioativos) de armazenamento, β -conglícinina e glicínina, nos lipídios hepáticos e nas proteínas envolvidas no metabolismo lipídico em ratos.	Proteína de soja/ β -conglícinina e glicínina	Ração com substituição da caseína por 20% de proteína de soja.	As dietas com proteína de soja reduziram o acúmulo e o conteúdo de lipídios no fígado em comparação com as dietas com caseína. As dietas com proteína de soja também diminuíram o nível de SREBP-1 hepático maduro e FAS e enzimas envolvidas na lipogênese..
Mizuta et al. (2021)		Proteína de soja	Ração com substituição da caseína por 21,7% de proteína de soja.	A proteína de soja e a d -alulose isoladamente diminuíram os níveis de triglicerídeos hepáticos sob a dieta gordurosa padrão, e sua combinação produziu os níveis mais baixos de triglicerídeos hepáticos, acompanhados por uma diminuição nas atividades das enzimas hepáticas associadas à síntese de ácidos graxos.
Vuolo et al. (2020)	Identificar e quantificar compostos bioativos para abordar os possíveis compostos responsáveis pelos efeitos de sua ingestão na obesidade. Além de avaliar o ganho	Casca de maracujá (PEPF)	Ração com substituição de 50% da celulose por farinha da casca de maracujá	A peroxidação lipídica no fígado e no tecido adiposo diminuiu no grupo com HFPP em comparação aos animais alimentados com HF, enquanto a atividade da glutathione peroxidase hepática e da

	de peso e a adiposidade; expressão e atividade de enzimas antioxidantes e peroxidação lipídica no fígado para abordar o grau de estresse oxidativo; e nível de citocinas inflamatórias no soro e expressão das proteínas relacionadas à sua produção no tecido adiposo e no fígado para tratar o estado inflamatório.			glutathione redutase e suas expressões no fígado foram maiores na HF do que na HF. Além disso, a ingestão de PEPF diminuiu as citocinas inflamatórias no soro. Estes resultados sugerem que a ingestão de PEPF diminui o estresse oxidativo, possivelmente pelo aumento da expressão de enzimas antioxidantes. Além disso, o PEPF diminui a resposta inflamatória e protege da adiposidade. Então, o PEPF poderia atuar como adjuvante no controle de parâmetros precoces na disfunção da obesidade.
Abdel- Wahhab et al. (2021)	sintetizar e caracterizar nanopartículas de Titânio (NPs de TiO ₂) por química verde usando extrato de casca de laranja, encapsular e caracterizar TEO, e avaliar a potencial atividade protetora do TEO encapsulado (ETEO) contra o dano oxidativo e genotoxicidade de NPs de TiO ₂ em ratos.	Óleo essencial de de tomilho (TEO) encapsulado (ETEO)	Brotos e caules de tomilho	A administração de NPs de TiO ₂ altera os marcadores hepáticos e renais, o perfil lipídico, as citocinas, os parâmetros de estresse oxidativo, a expressão de mRNA hepático apoptótico e antioxidante e induz alterações histológicas nos tecidos hepático e renal. A ETEO poderia melhorar todos esses parâmetros de maneira dose-dependente. Pode-se concluir que o ETEO é um candidato promissor para proteção contra NPs de TiO ₂ e pode ser aplicado com segurança em aplicações alimentícias.
Almeida et al. (2016)	Investigar os efeitos antiobesidade da farinha de folhas de P. grandifolia (ora pro-nobis) em ratos obesos induzidos por dieta hipercalórica	Farinha de ora pro-nobis (FPG)	Ração com adicionada de 5% ou 10% de (FPG)	Os animais FPG 10% consumiram menos ração, ganharam menos peso. Os grupos FPG 5% e FPG 10% apresentaram menor teor de lipídios hepático e apresentaram menor dano hepático na análise histológica, comparado ao controle.

Affane et al. (2018)	determinar o efeito da proteína isolada do subproduto da sardinha comparada àquela obtida da porção comestível (filé), e com caseína, sobre parâmetros de crescimento, nível sérico de leptina, distúrbios lipídicos, reversão transporte de colesterol e peroxidação lipídica em ratos obesos induzidos por dieta rica em gordura.	Sardinha e subprodutos	Ração com 20% proteína do filé sardinha (SF-P) ou Proteína dos subproduto da sardinha (SBy-P)	Os resultados mostraram que o SBy-P, comparado ao SF-P e Cas, reduziu eficientemente a ingestão alimentar (IA), o ganho de peso corporal e o nível sérico de leptina, e melhorou os níveis de lipídios no sangue e o transporte reverso de colesterol, reduzindo o colesterol total (CT), triacilgliceróis (TG) e níveis séricos de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-HDL 1 -C), aumentando o nível de colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL 2 -C e HDL 3 -C) e aumentando a atividade da lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) . Além disso, atenuaram a peroxidação lipídica aumentando a atividade ateroprotetora da paraoxonase-1 (PON-1).
----------------------	---	------------------------	---	--

3.2 LEITE CAPRINO

Por ser fonte primária de nutrientes para lactentes, crianças e também adultos, o leite é um produto bastante consumido no mundo e faz parte da alimentação humana há mais de 6000 anos (BLEASDALE et al., 2021; MANSOR et al., 2023). A permanência desse alimento na alimentação humana se dá principalmente por apresentar uma qualidade nutricional e ser versátil, podendo ser consumido *in natura*, como também ser formulado em derivados (PARK e HAENLEI, 2010; CHEN et al., 2023). No entanto, por apresentar algumas propriedades alergênicas e menor digestibilidade, o leite bovino, que é o mais consumido no mundo, necessita ser substituído em alguns casos (FAN et al., 2023; MANSOR et al., 2023).

Já é sabido que o leite caprino é uma opção, por apresentar alto valor nutricional, contendo aminoácidos, vitaminas, minerais, enzimas e outros nutrientes destacando-se os ácidos oleico conjugado e ácidos graxos essenciais como linoleico, linolênico entre outros, apresenta menor teor de α -caseína e β -lactoglobulina e sua composição proteica é similar ao leite humano. Essas peculiaridades fazem com que o leite caprino seja menos propenso a produzir reações alérgicas e seja mais digerível e absorvível por apresentar partículas de gordura pequenas e uniformes (CHAUHAN et al., 2021; YANG et al., 2021; MA et al., 2023). O leite de cabra apresenta também em sua composição nutricional, um rico conteúdo mineral, principalmente cálcio e fósforo, além de um baixo teor de lactose, sendo benéfico assim para o regulamento da flora intestinal (SOUSA et al., 2019; LIU, CAI e ZHANG 2021; MA et al., 2023). Nesse sentido, o consumo desse alimento, assim como os seus derivados, como o iogurte, proporciona diversos benefícios à saúde de seus consumidores.

Os lácteos caprinos estão sendo cada vez mais estudados pelos seus inúmeros benefícios. Um dos pontos que chama atenção dos pesquisados é a composição de compostos e peptídeos bioativos presentes nessa matriz (HAMMAM et al., 2021; NAYKI et al., 2021). Os peptídeos bioativos são substâncias químicas ativas no organismo e podem desempenhar diversas funções biológicas (ZANG et al., 2023). Estudos indicam que os peptídeos obtidos a partir da hidrólise do leite e derivados caprinos possuem atividade anti-hipertensiva, antioxidantes, hipoglicemiantes, anti-inflamatórias e imunomoduladoras (AHMED et al., 2015; HERNANDEZ et al., 2011; DU et al., 2022; SANTOS et al., 2023).

3.2.1 Iogurte caprino

O iogurte é um produto lácteo produzido a partir da fermentação do leite por bactérias ácido-láticas, principalmente do gênero *Lactobacillus*, sendo um produto bastante consumido, devido a sua praticidade (MORAIS et al., 2022; DANTAS et al., 2022). O uso de microrganismos com potencial probiótico em produtos lácteos, acentuam ainda mais os benefícios desse produto. Estes microrganismos podem desempenhar diversos papéis no produto, tanto no desenvolvimento da textura, na melhora da qualidade microbiológica, no aumento da vida útil além de melhorar a qualidade sensorial e aumentar o efeito funcional deste produto, neste caso, estudos associam o consumo desse tipo de alimentos a uma melhora da saúde intestinal de seus consumidores (FENG et al., 2019; MORAIS et al., 2022).

Quando essa praticidade é associada à benefícios à saúde, torna-se um atrativo para os consumidores. Nesse sentido, o iogurte de leite de cabra ganha bastante evidência, principalmente pela sua composição química, perfil nutricional e possíveis benefícios trazidos à saúde (KIM et al., 2020; WANG et al., 2022), principalmente pelo seu perfil de ácidos graxos, o consumo desse alimento traz benefícios já consolidados na literatura, no tratamento de distúrbios e doenças, como doenças arterial coronariana e distúrbios intestinais (HAENLEN, 2004; ZHAO et al., 2022).

No entanto, pela presença dos ácidos cáprico, caprílico e capróico, o iogurte caprino não tem uma grande aceitabilidade por parte dos consumidores (COSTA et al., 2017; FENG et al., 2019). Pensando nisso, pesquisadores e a indústria de alimentos têm estabelecido estratégias tecnológicas (DANTAS et al., 2022) para melhorar os aspectos sensoriais e cativar mais consumidores para aderir o consumo deste alimento. Uma dessas estratégias é a adição de vegetais para agregar sabor e valor nutricional a esta preparação, tornando-a assim, mais aceitável e palatável pelos consumidores (BEZERRIL et al., 2021).

3.3 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC)

As Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs), são plantas geralmente encontradas em áreas urbanas, podem ser nativas, exóticas, espontâneas, silvestres ou cultivadas (Pereira et al., 2023) e compreendem partes de plantas que, no geral, não são muito usadas para o consumo humano, além disso, outra característica é que essas plantas têm uma distribuição geográfica mais limitada (Souza et al., 2023). Essas plantas, denominadas PANCs fazem parte da Lista Nacional de Espécies da Socio Biodiversidade (BRASIL, 2018). Diversos estudos têm sido desenvolvidos, pois, além de apresentarem alto valor nutricional para consumo

diário (COSTA et al., 2023), como vitaminas (BEZERRA e BRITO 2020), no geral, elas são ricas em compostos bioativos, antioxidantes, que desempenham diversas funções farmacológicas (FONSECA et al., 2022; Hoff et al., 2022), além de fibras alimentares (SOUZA e AQUINO, 2019).

As Pancs, geralmente são conhecidas como matos, e crescem espontaneamente na natureza (KINUPP, 2018). Além disso, essas plantas são também denominadas de “alimentos da fome”, “plantas do futuro”, entre outros (LEAL et al., 2018), pois elas além de possuírem alto valor nutritivo, também podem desempenhar papel medicinal (BIONDO et al., 2021). Essas plantas têm ganhado cada vez mais espaço, pois além de ser uma boa alternativa para melhorar a qualidade nutricional da população, pode ser uma das alternativas para combater a insegurança alimentar em regiões mais carentes, além de ser uma alternativa de fonte de renda (MARIUTTI et al., 2021).

Dentre as PANCs destacam-se as cactáceas, que fazem parte de um grupo de plantas xerofíticas (ABIDI et al., 2009; ARAÚJO et al., 2021), com aproximadamente 1850 espécies, amplamente distribuída em regiões áridas e semiáridas das américas (ARAKAKI et al., 2011). Suas características mais marcantes são a capacidade de resistir a longos períodos de seca, além de possuírem uma diversas formas e tamanhos, hastes suculentas e frutas comestíveis (ARAÚJO et al., 2021). No mundo, o Brasil é o terceiro maior centro de diversidade desta família (ORTEGA-BAES; GODÍNEZ-ALVARENGA, 2006; ANDRADE et al., 2021) Algumas das espécies dessa família estão sendo exploradas comercialmente e outras ainda são subutilizadas, como a *Opuntia ficus-indica* (El-Mostafa et al., 2014).

Estudos em animais, que analisaram os efeitos do consumo de algumas cactáceas, e viram que, a OFI foi capaz de reduzir peroxidação cerebral e comportamento ansiolítico em ratos (Moura et al., 2023), o consumo de mandacaru, adicionada a iogurte caprino impactou de forma negativa no peso corporal, parâmetros bioquímicos e deposição de gorduras no fígado de ratos jovens (Dutra et al., 2024), o consumo de *opuntia humifusa* foi capaz de reduzir os níveis glicose, triglicérides, colesterol, LDL e aumento de HDL sérico (Hahm et al., 2011)

3.3.1 Cladódio de Palma (*Opuntia Ficus-indica*) e benefícios

Opuntia Ficus-indica (OFI), popularmente conhecida figo indiano, cacto nopal e palma, é uma angiosperma cactácea dicotiledônea, espécie pertencente à família Cactaceae, extremamente resistente à seca, por isso, é cultivada principalmente em regiões mais secas em todo o mundo (VICIDOMINI, ROVIELLO e ROVIELLO, 2021; MESSINA et al., 2021). No

Brasil, essa cactácea foi trazida pelos portugueses no período colonial, com o objetivo de produção de cochonilha, e se adaptou bem ao clima, ela é nativa endêmica do bioma Caatinga, presente principalmente na região Nordeste (ALVES et al., 2008; MEDEIROS, et al., 2019).

No mundo, o México é o país que mais cultiva a OFI, no entanto é uma planta utilizada em outros países, como na Itália, que produz cerca de 78.000 toneladas de frutas frescas da OFI. A parte mais consumida é o fruto, e ele é consumido tanto na sua forma *in natura* como processada na forma de geleias, pães, bolos e sucos (Nadia et al., 2021). Mas, além do consumo do fruto, o cladódio ou raquetes, que geralmente são usadas na alimentação animal, no entanto, está começando a ser usada para o consumo humano, tanto na sua forma *in natura*, como na substituição de ingredientes para produção de alimentos, como macarrão, bolos, biscoitos, ou adição em outras matrizes, para aumentar o valor nutricional (Aiello et al., 2018; Micale et al., 2017; Bouazizi et al., 2020).

No geral, os cladódios de Palma são usados apenas para alimentação animal, no entanto, estudos apontam que sua composição química não apresenta nenhum malefício em casos de consumo humano. Estudos evidenciam que a composição nutricional tanto dos frutos como dos cladódios pode trazer benefícios para a saúde humana (EL-MOSTAFA et al., 2014; AMRANE-ABINER et al., 2022). Em sua maior parte, é composta por água, além disso, apresenta alto valor nutricional, contendo quantidades consideráveis de carboidratos, minerais, compostos bioativos e fibras alimentares (VIEIRA, et al., 2021), conferindo propriedades funcionais. Dentre os compostos bioativos, os compostos fenólicos, principalmente os polifenóis destacam-se, pela propriedade antioxidante e anti-inflamatória que essas substâncias conferem, podendo assim trazer diversos benefícios à saúde, reduzindo o aparecimento de doenças (EL-MOSTAFA et al., 2014; SANTOS, et al., 2021).

Os compostos antioxidantes são substâncias que são lhes atribuídas diversas funcionalidades (MAGALHÃES; SANTOS, 2021), entre elas, combater os radicais livres, responsáveis por danos celulares que promovem o desenvolvimento de cascatas inflamatórias no organismo humano, e consequentemente o aparecimento de doenças (MORAIS, et al., 2022). No combate aos radicais livres, os compostos antioxidantes atuam neutralizando a formação destes compostos, aumentando a supressão de citocinas inflamatórias, evitando surgimento de processos inflamatórios (LEE et al., 2009; KIM et al., 2014; ONTARIANO, et al., 2022).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRA

Os cladódios ou raquetes da Palma foram coletados na cidade de Cuité/PB [6°29'46.0"S 36°09'34.7"W] e o leite caprino foi obtido de uma pequena produção de cabras da raça *Toggenburg*, localizada na cidade de Nova Floresta/PB [6°27'33.2"S 36°12'04.6"W]. A cultura *starter* (Y 472, Sacco, Campinas, São Paulo, Brasil) composta por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e o açúcar refinado (União®, São Paulo, Brasil), foram obtidos comercialmente.

4.2 PROCESSAMENTO DO PÓ DE *Opuntia ficus-indica* (OFI)

O pó de OFI foi elaborada seguindo o método descrito por Machado (2019), com modificações. A palma foi coletada em um único dia. Após a retirada dos espinhos, os cladódios foram higienizados com água corrente e sanitização com hipoclorito de sódio (100 ppm), conforme preconiza a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)- RDC nº 216/2004 (BRASIL, 2004), em seguida, foram cortados em fatias de aproximadamente 1 centímetro de espessura, com faca de aço inox estéril. Posteriormente, a palma foi levada para a estufa de circulação de ar (Quimis, estufa microprocessada com circulação forçada - Q314M, Brasil) para secagem ($50\pm 1^{\circ}\text{C}$) até atingir 4% de umidade, o que levou aproximadamente 48h. Para obtenção do pó, o OFI foi triturada em um liquidificador e peneirada em uma peneira de 230 mesh em agitador de peneiras (Bertel®, Caieiras, São Paulo) em seguida, passou pelo moinho de facas e por fim (7Lab Micro910), foi embalada em saco de polipropileno e congelada a $-20\pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.3 ELABORAÇÃO DO IOGURTE CAPRINO

Para elaboração do iogurte caprino, inicialmente foi adicionado ao leite caprino pasteurizado ($65 \pm 1^\circ\text{C}/30\text{min}$) 10% de sacarose, e, posteriormente, este leite foi submetido a um tratamento térmico ($90 \pm 1^\circ\text{C}/10\text{min}$). O leite foi resfriado a $45 \pm 1^\circ\text{C}$, e em seguida, foi inoculada ao leite a cultura *starter*, composta por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, em uma concentração de 0,4g/L. O processo de fermentação ocorreu em uma incubadora BOD (Marconi®, modelo MA 415, Brasil) a uma temperatura de $45 \pm 1^\circ\text{C}$ por 4 horas. A finalização da fermentação do iogurte ocorreu com base na firmeza do coágulo e na determinação do pH, que atingiu no máximo 4,5. Posteriormente, o iogurte foi resfriado a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ e, em seguida, o coágulo foi quebrado por meio de agitação manual com um bastão de vidro. Em seguida, foi adicionado o pó de OFI, na concentração de 7%, seguindo a metodologia descrita por Fabersani e colaboradores (2018).

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Trata-se de um estudo experimental com ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus*), que foi executado no laboratório de Nutrição Experimental (LANEX), Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), mediante aprovação prévia da Comissão de Ética no Uso de Animais de Laboratório (CEUA) da UFCG, sob o número 62/2021 (Anexo 1). Todos os experimentos seguiram as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e das diretrizes *Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments – ARRIVE guidelines* (PERCIE DU SERT et al., 2020).

Para o ensaio biológico, foram utilizados 30 (trinta) ratos machos adultos alocados aleatoriamente em três grupos: Grupo controle (GC), que recebeu água destilada; Grupo Iogurte caprino (IC), que recebeu apenas o iogurte; e o grupo Iogurte caprino com palma (ICP) que recebeu a formulação de iogurte caprino adicionado do pó de OFI. Os grupos experimentais foram tratados com 2ml de iogurte caprino, adicionado ou não de pó de OFI, por um período de 30 dias. Durante o período de administração dos iogurtes, os animais tiveram o peso e consumo de ração aferidos semanalmente.

Após o período experimental, os animais foram eutanasiados para coleta de material biológico: Sangue, para determinações bioquímicas; e tecidos (fígado e gorduras retroperitoneal, mesentérica e epididimal), depois de serem retirados, esses tecidos foram pesados. Parte do fígado foi separado para análises de composição de ácidos graxos, análise de conteúdo de malondialdeído (MDA) e gorduras totais.

4.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS IOGURTES

A caracterização dos iogurtes foi feita a partir da análises de atividade de água a 25°C que foi determinada com a leitura feita no equipamento Aqualab (Meter[®], AquaLab Série 4TEV, São José dos Campos, SP, Brasil); o teor de umidade, analisada a partir da secagem do produto na estufa a 105°C, até massa constante; teor de cinzas (resíduo mineral fixo - FMR) que foi quantificado por meio da incineração em mufla (Jung[®], modelo 0612, Blumenau, SC, Brasil) a 550 °C; a quantificação de proteínas ocorreu pelo método de micro-Kjeldahl; e foi usado o método de redução de Fehling (AOAC, 2019) para determinar os carboidratos; o método de Folch, Less e Sloane-Stanley (1957) foi usado para determinação e quantificação de gordura. A caracterização dos iogurtes estão demonstrados na tabela 1.

Para obtenção dos extratos lipídicos dos iogurtes, o método de Folch, Less e Sloane-Stanley (1957) foi usado. Com esses extratos foram obtidos os ésteres metílicos seguindo a metodologia descrita por Hartman e Lago (1973). Já a quantificação e identificação dos ésteres metílicos foi realizada por um cromatógrafo a gás Ciola & Gregori Ltda (modelo CG-Master) com um detector de ionização de chamas. Para a análise cromatográfica foi utilizada uma coluna de polietilenoglicol (Carbowax 20M), com uma sílica fundida de 30 metros de comprimento, 0,53 milímetros de diâmetro e 0,25 µm de espessura de filme da fase estacionária. O vaporizador e o detector estavam com as temperaturas de 150 °C e 200 °C, respectivamente. O forno ficou programado a uma temperatura de 80°C por 30 minutos, aumentando 10°C/minuto até chegar aos 180°C. A fase móvel foi hidrogênio, com vazão de 5mL/minuto. 1µl foi injetado, com razão de divisão 1:25. Os ácidos graxos foram caracterizados comparando o espectro de massa obtido com os padrões também injetados no CG-MS.

4.6 ENSAIO BIOLÓGICO

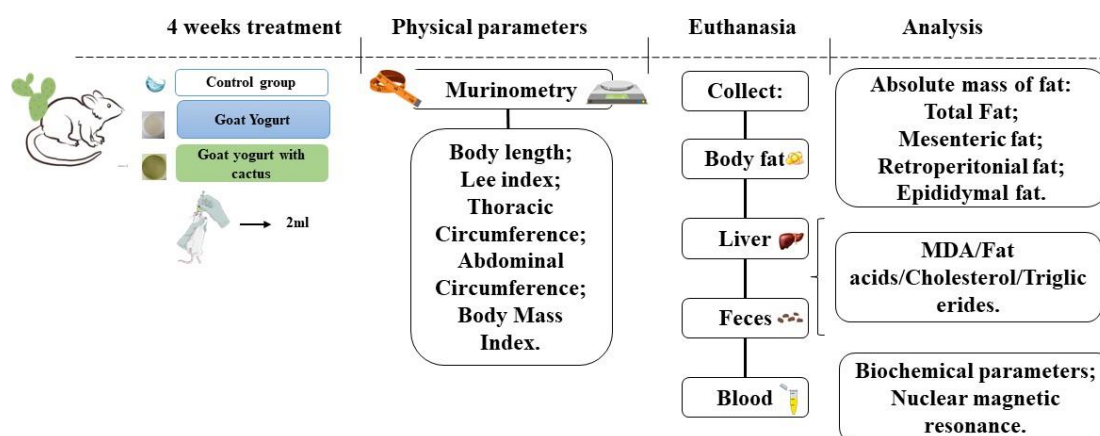
O protocolo do estudo foi conduzido de acordo com as Diretrizes de Pesquisa: Reporting of In Vivo Experiments (ARRIVE) (PERCIE DU SERT et al., 2020), e foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA do Centro de Tecnologia e Saúde Rural - CSTR/UFCG, protocolo número 62/2021.

Foram utilizados 30 ratos machos adultos da linhagem *Wistar* provenientes do Biotério de criação da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) com idade entre 90 dias e peso 250 ± 50 g. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (3 animais por gaiola), em

condições-padrão: temperatura $22 \pm 1^\circ\text{C}$, com ciclo claro-escuro (12 horas, início da fase clara às 06:00h), umidade de $\pm 65\%$, recebendo ração e água *ad libitum*. Os ratos receberam o iogurte caprino adicionado ou não do pó de OFI, por via oral (gavagem), e dieta comercial da marca Nuvilab®, durante 30 dias. Houve randomização para divisão dos animais em 3 grupos: Grupo Controle (CG) que recebeu água destilada; Iogurte caprino (GY) e Iogurte caprino adicionado de pó de OFI (CGY), foram tratados com 2 mL do iogurte caprino.

A dose administrada foi definida de acordo com Fabersani et al. (2018) que suplementou 2 mL de iogurte caprino adicionado de farinha de yacon com efeitos positivos no impacto metabólico em ratos com dieta rica em gordura.

Figura 1 – Desenho experimental



4.6.1 Peso corporal e consumo alimentar dos animais

Os animais tiveram o peso corporal e o consumo de ração aferidos semanalmente, a partir do primeiro dia de experimento, em balança Balmak® (modelo ELP – 10, Santa Bárbara do Oeste/SP, Brasil), com variação de 20 a 10.000 g). O consumo representou a diferença entre a ração ofertada e o rejeito, seguindo a fórmula: Ingestão (g) = cota oferecida (g) - rejeição limpa (g). O alimento que não foi consumido e permaneceu na área externa da gaiola foi considerado como rejeito limpo (VADIVEL; PUGALENTI, 2010).

4.7 EUTANÁSIA

Após o tratamento com os iogurtes, os animais foram decapitados para coleta de material biológico, o sangue para determinações bioquímicas. Em seguida, foram retirados e

pesados, os fígados. Para análise do conteúdo de malonaldeído (MDA) no fígado, o lóbulo maior dos tecidos foram divididos manualmente em tiras, com a utilização de uma lâmina de bisturi, foram feitos cortes longitudinais no sentido antero-posterior. Os tecidos foram imediatamente pesados e colocados em uma superfície com gelo e em seguida foram mantidos em - 80 °C até o momento das análises.

4.8 AVALIAÇÃO FÍSICA

Foi realizada avaliação física dos animais, além do peso corporal, fora aferidos comprimento naso-anal, circunferência torácica (CT) e circunferência abdominal (CA), com isso, foi feita a relação da circunferência abdominal/torácica. Adicionalmente, foi analisado o índice de massa corporal (IMC) e índice de Lee em todos os animais, seguindo a metodologia descrita por Noveli e colaboradores (2007). Foi avaliada a abundância relativa de gordura corporal por meio da pesagem das gorduras mesentérica, retroperitoneal e epididimal em balança Balmak® (modelo ELP – 10, Santa Bárbara do Oeste/SP, Brasil), com variação de 20 a 10.000 g).

4.9 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

O sangue, após coletado, foi centrifugado a 7546 xg por 10 min (Centribio, modelo 80-2B, China) e o sobrenadante utilizado para dosar o colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicerídeos, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), utilizando o conjunto de diagnósticos Labtest (Minas Gerais, Brasil): Colesterol Liquiform®, HDL- Liquiform®, Triglicérides Liquiform®. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (UV-VIS, modelo 5100, China) utilizando absorbância específica para cada teste (500nm – Colesterol Total e HDL / 505 nm - Glicemia, Triglicerídeos, AST e ALT).

A concentração da fração de colesterol LDL foi calculada utilizando-se a fórmula de Friedewald ($LDL = COLEST\ TOTAL - (HDL + TG/5)$) (FRIEDEWALD, 1972). O índice aterogênico (IA) foi calculado segundo a equação: $IA = TGC/HDL-C$ (GAZIANO et al., 1997).

Além disso, foi possível determinar os índices de risco coronariano (IRC) e o índice de risco cardiovascular (IRCV), por meio das equações: $IRC = CT/HDL$; $IRCV = TG/HDL$, respectivamente, conforme a metodologia descrita por Friedewald e colaboradores (1972); Alladi; Shanmugari (1989). Índice de adiposidade (IAD) foi calculado usando a fórmula: [peso

da gordura corporal (epididimal + visceral + retroperitoneal)/peso corporal] x 100 (NASCIMENTO et al., 2011).

4.10 ANÁLISE DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS TECIDUAIS

4.10.1 Coleta dos tecidos

Após coletar o fígado e material fecal dos animais, em seguida, ambos foram pesados. Após pesados, os materiais foram colocados em potes coletores estéreis e armazenados a -20°C para posterior análise.

4.10.2 Transesterificação dos ácidos graxos

Para preparo das amostras, foi realizada a metilação dos ácidos graxos presentes para elaborar os extratos lipídicos, seguindo a metodologia descrita por Hartman e Lago (1973). Foi retirado uma alíquota do extrato lipídico para medir e calcular o teor de gordura nesses extratos, como descrito por Folch e colaboradores (1957). Posteriormente, 1mL de padrão interno (C19:0) foi misturado junto com uma solução saponificante (KOH). Em seguida, a mistura foi levada para aquecimento em fluxo, por 4 minutos e a solução de esterificação foi adicionada, deixando a solução por mais 3 minutos em aquecimento. Após esfriar, a amostra sofre lavagens subsequentes com éter, hexano e água destilada para obtenção de um extrato (com os ésteres metílicos e solventes) e armazenados em vidros âmbar identificados, até secagem completa dos solventes. Após secagem, o extrato foi suspenso em 1mL de hexano e embalados em vials para análise de cromatografia gasosa.

4.10.3 Análise cromatográfica gasosa

O perfil de AG foi determinado por cromatografia gasosa com massa em um espectrômetro (VARIAN 430-GC, Califórnia, EUA), acoplado a uma coluna capilar de sílica (CP WAX 52 C B, VARIAN, Califórnia, EUA), com dimensões 60m x 0,25 mm e um filme de espessura de 0,25 µm. Como gás de arraste, foi usado o hélio (vazão de 1mL/min). A temperatura inicial do forno foi de 100°C, programada para atingir 240°C, aumentando 2,5°C por minuto, permanecendo 30, totalizando uma corrida de 86 min. A temperatura do injetor foi mantida em 250°C, e a do detector a 260°C. Alíquotas de 1,0 µl dos extratos esterificados foram injetados em um injetor Split. Os cromatogramas foram registrados usando Software do sistema de dados de cromatografia Galaxie. Os ácidos graxos foram identificados comparando os tempos de retenção dos ésteres metílicos da amostra com padrões Supelco Mix C4-24/C19.

Os dados dos ácidos graxos foram quantificados pela normalização das áreas dos ésteres metílicos e foram expressos como uma porcentagem por área, com adaptações (DIAS et al., 2019).

4.11 METABOLÔMICA DO SORO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) DE ^1H

O métodos descrito por Del Coco et al., (2019), com modificações, foi usado para realizar a análise metabolômica do soro. O sangue que foi coletado e centrifugado (Centrífuga de Bancada Digital – NT 810, marca Novatecnica, Piracicaba – São Paulo, Brasil) a uma força G de 1308 por 15 minutos para obtenção do soro que foi congelado a -80°C . Para a análise, as amostras de soro foram descongeladas, posteriormente, foi retirada uma alíquota de 175 μL do soro que foi misturada com 300 μL de uma solução (potassium buffer, pH 7.1) e 75 mL de D_2O . Após homogeneizada, para análise espectral de ^1H RMN, essa solução foi transferida para um tubo de NMR de 5mm de diâmetro, 7 polegadas de comprimento.

Os espectros ^1H RMN unidirecionais foram analisados em um espectrômetro Bruker ASCEND 400 MHz (Bruker, Coventry, Reino Unido), a uma temperatura de 300 K. Os parâmetros para obtenção dos espectros foram: números de scans: 128, time domain: 25 K, dummer scan: 16, acquisition time: 0,8 s, spectral windows 40 ppm e d20: 0,8 ms. Apodização com de linha exponencial equivalente a 0,8 Hz foi aplicado aos FIDs. Os deslocamentos químicos para todas as amostras foram referenciados para TPS (3-(trimethylsilyl) propionic-2,2,3,3-d $_4$ acid) a 0,00 ppm.

4.12 PERFIL LIPÍDICO GLOCÊMICO E ENZIMAS HEPÁTICAS E RENAIIS

O plasma obtido após a centrifugação do sangue (Centrífuga de Bancada Digital – NT 810, marca Novatecnica, Piracicaba – São Paulo, Brasil) a uma força G de 1308 por 15 minutos, foi utilizado para fazer a dosagem de colesterol total, HDL-colesterol, triglicerídeos, transaminase pirúvica (TGP), transaminase oxalacética (TGO), creatinina, ureia e glicose. Estas análises foram feitas usando o método enzimático Kit comercial Labtest (Minas Gerais, Brasil) e a leitura foi realizada em espectrofotômetro, com absorbância determinada para cada teste.

4.13 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE COLESTEROL, TRIGLICÉRIDES E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO FÍGADO E FEZES

O método descrito por Folch; Less; Stanley (1957) foi usado para a análise de extração dos lipídios hepáticos. Após a extração dos lipídios, foram analisadas as concentrações de triglicerídeos e colesterol hepático e fecal, por meio de método enzimático, kit comercial Labtest (Minas Gerais, Brasil) e a leitura realizada em espectrofotômetro, a uma absorvância de 500nm. Os ácidos graxos foram quantificados de acordo com o método descrito no ponto 4.6.

4.14 CONCENTRAÇÃO DE MALONDIALDEÍDO (MDA) HEPÁTICO

A determinação do conteúdo de MDA foi realizada pelo método descrito por Esterbauer e Cheeseman (1990). Após fragmentação do fígado, uma tira de cada tecido foi separada para esta análise, colocada em microtubo de 2,0 mL e levada ao congelamento a uma temperatura de - 80 °C. Para iniciar a determinação do MDA, as amostras do tecido foram descongeladas e posteriormente pesadas. Mediante o peso foi calculada a quantidade de tampão Tris HCl para cada amostra, utilizando-se a proporção de 1:5 (p/v). O tecido foi picado com uma tesoura por, aproximadamente 15 segundos, em meio resfriado. O material fragmentado foi triturado e homogeneizado a frio, sob ação de um triturador (Ultra Stirrer®, Modelo: Ultra 80), e a ele adicionado o tampão Tris HCl. O homogenato obtido foi centrifugado a 2500 xg por 10 min a 4 °C e 300 µL do sobrenadante foi transferido para um microtubo, sendo adicionados 750 µL do reativo cromogênico e 225 µL de ácido clorídrico (HCl – 37%). Em seguida, o material foi colocado em banho-maria com agitação a 45 °C, durante 40 min e, posteriormente, levado à uma centrifugação a 2500 xg durante 5 min a 4 °C. Do sobrenadante, 300 µL foi transferido para microplaca de 96 poços, em duplicata, e levado para leitor de microplacas (Polaris, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) a um comprimento de onda de 586 nm. O conteúdo de MDA foi calculado através de interpolação em curva padrão com o 1,1,3,3 – tetraetoxipropano, o qual foi hidrolisado durante o passo de incubação com HCl a 45 °C, gerando o MDA. Os resultados foram expressos em nmoL/g tecido.

4.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O TopSpsin versão 4.1.1 foi o software usado para o processamento dos espectros. Para análise, os espectros de RMN foram submetidos a alguns tratamentos, como referenciamento,

correção de linha de base, alinhamento, correção de fase, remoção do pico da água que estava em 5,07-7,60 ppm, normalização da área total do espectro, e, por fim, obtenção dos binning com range de 0 a 9 ppm, com buckets de 0,025 ppm.

A análise dos componentes principais (PCA) foi realizada através do software Past versão 4.03 de 2020, com os dados obtidos do espectro de binning foram submetidos a normalização por área e a PCA foi obtida com cross validation.

As demais análises foram expressas com média $\pm$ SEM. Foi usado também o teste de normalidade Shapiro-Wilk para aplicar e analisar por ANOVA two-way seguido pelo teste de Tukey, quando este foi necessário. Para todas as análises $p \leq 0,05$ estatisticamente significativo.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-WAHHAB, Mosaad A. et al. Elimination of oxidative stress and genotoxicity of biosynthesized titanium dioxide nanoparticles in rats via supplementation with whey protein-coated thyme essential oil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 57640-57656, 2021.
- AFFANE, Fouad et al. Hypolipidemic, antioxidant and antiatherogenic property of sardine by-products proteins in high-fat diet induced obese rats. **Life sciences**, v. 199, p. 16-22, 2018.
- ALMEIDA, Martha Elisa Ferreira et al. Improvement of physiological parameters of rats subjected to hypercaloric diet, with the use of *Pereskia grandifolia* (Cactaceae) leaf flour. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 10, n. 6, p. 701-709, 2016.
- ALVES, A. S.; CONSTANT, P. B. L.; TELES, A. R. S. Avaliação físico-química e sensorial de pão de forma elaborado com farinha de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e14101119433-e14101119433, 2021.
- ARAÚJO, F. F. *et al.* Underutilized plants of the Cactaceae family: Nutritional aspects and technological applications. **Food Chemistry**, v. 362, p. 130196, 2021.
- Arakaki M, Christin PA, Nyffeler R, Lendel A, Eggli U, Ogburn RM, Spriggs E, Moore MJ, Edwards EJ. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011 May 17;108(20):8379-84.
- BANWO, K. et al. Functional importance of bioactive compounds of foods with Potential Health Benefits: A review on recent trends. **Food Bioscience**, v. 43, p. 101320, 2021.
- BEZERRIL, F. F.; PIMENTEL, T. C.; SANT'ANA, A. M. S.; SOUZA, M. F. V.; MEDEIROS, L. L.; GALVÃO, M.; MADRUGA, M. S.; QUIEROGA, R. C. R. E.; MAGNANI, M. Lacticaseibacillus casei 01 improves the sensory characteristics in goat milk yogurt added with xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) jam through changes in volatiles concentration. **Food Science and Technology – LWT**. p. 112598, 2021.
- Brasil, 2018. **Portaria interministerial nº 284, de 30 de maio de 2018**. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/29306868/do1-2018-07-10-portaria-interministerial-n-284-de-30-de-maio-de-2018-29306860 Acesso em 28 de outubro de 2021.
- BEZERRA, Juliana Alves; BRITO, Marilene Magalhães de. Nutricional and antioxidant potencial of unconventional food plants and their use in food. 2020.
- BIONDO, Elaine et al. WILD STRAWBERRIES (*Rubus rosifolius* Sm.) FROM SOUTHERN BRAZIL: CENTESIMAL AND MINERAL COMPOSITION, TOTAL POLYPHENOLS, ANTIOXIDANT, ANTIBACTERIAL AND ANTI-HYPERTENSIVE ACTIVITIES. **Revista Ciência Agrícola**, v. 19, n. 1, p. 71-78, 2021.
- BLEASDALE, M. et al. Ancient proteins provide evidence of dairy consumption in eastern Africa. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 632, 2021.

- BROWN, Lisa et al. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 1, p. 30-42, 1999.
- CHANDIMALI, Nisansala et al. Bioactive peptides derived from duck products and by-products as functional food ingredients. **Journal of Functional Foods**, v. 113, p. 105953, 2024.
- CHEN, Qingxue et al. Elucidating gut microbiota and metabolite patterns shaped by goat milk-based infant formula feeding in mice colonized by healthy infant feces. **Food Chemistry**, p. 135413, 2023.
- CHAUHAN, Shivani; POWAR, Pratik; MEHRA, Rahul. A review on nutritional advantages and nutraceutical properties of cow and goat milk. **International Journal of Applied Research**, v. 7, n. 10, p. 101-105, 2021.
- CHATTERJEE, Cynthia et al. The α 'subunit of β -conglycinin and various glycinin subunits of soy are not required to modulate hepatic lipid metabolism in rats. **European Journal of Nutrition**, v. 57, p. 1157-1168, 2018.
- COSTA, Marion P. et al. Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 1, p. 157-168, 2017.
- COSTA, Lyvia Daim et al. *Pachira aquatica* (Malvaceae): an unconventional food plant with food, technological, and nutritional potential to be explored. **Food Research International**, p. 112354, 2022.
- DANTAS, D. L. S. et al. *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) flour: Improving the nutritional, bioactive, and technological properties of probiotic goat-milk yogurt. **LWT**, v. 158, p. 113165, 2022.
- DHINGRA, Devinder et al. Dietary fibre in foods: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 255-266, 2012.
- DUTRA, Larissa Maria Gomes et al. Metabolomic analysis reveals changes in the serum lipoproteins of young rats that consumed goat yogurt added with *Cereus jamacaru* DC. **Food Bioscience**, p. 103648, 2024.
- EL-MOSTAFA, Karym et al. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. **Molecules**, v. 19, n. 9, p. 14879-14901, 2014.
- ESTERBAUER, Hermann; CHEESEMAN, Kevin H. [42] Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In: *Methods in enzymology*. Academic Press, 1990. p. 407-421.
- ERNY, D.; DE ANGELIS, A. L. H.; JAITIN, D.; WIEGHOFER, P.; STASZEWSKI, O.; DAVID, E.; PRINZ, M. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. **Nature Neuroscience**, v. 18, n. 7, p. 965-977, 2015.

FABERSANI, E.; GRANDE, M. V.; ARÁOZ, M. V. C.; ZANNIER, M. L.; SÁNCHEZ, S. S.; GRAU, A.; HANORÉ, S. M. Metabolic effects of goat milk yogurt supplemented with yacon flour in rats on high-fat diet. **Journal of Functional Foods**, v. 49, p. 447-457, 2018.

FAN, Rongbo et al. Identification markers of goat milk adulterated with bovine milk based on proteomics and metabolomics. **Food Chemistry**: X, p. 100601, 2023.

FENG, C.; WANG, B.; ZHAO, A.; WEI, L.; SHAO, Y.; WANG, Y.; ZHANG, F. Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube Pulp. **Food Chemistry**, v. 277, p. 238-245, 2019.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids. **Journal of Biological Chemistry**, v.226, p.497-509, 1957.

FONSECA MACHADO, Ana Paula et al. Brazilian tucumã-do-Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) and tucumã-do-Pará (*Astrocaryum vulgare*) fruits: bioactive composition, health benefits, and technological potential. **Food Research International**, v. 151, p. 110902, 2022.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, 1972.

GODARD, M.; EWING, B.; PISCHELI. Acute blood glucose lowering effects and long-term safety of *Opuntia* supplementation in prediabetic males and females. **J Ethnopharmacol**, p. 1-2, 2010.

GLYNN, Erin L. et al. Consuming a protein and fiber-based supplement preload promotes weight loss and alters metabolic markers in overweight adults in a 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **The Journal of Nutrition**, v. 152, n. 6, p. 1415-1425, 2022.

GUAADAQUI, A. et al. What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, v. 3, n. 3, p. 174-179, 2014.

GUO, M. R. Goat milk chemistry and its product manufacturing technology. S. Jiang (Ed.). *Goat Milk Products and Their Manufacturing Technology*. **Nova Science Publishers, Inc** (2020), pp. 152-153.

GONZÁLEZ-BOSCH, C., BOORMAN, E., ZUNSZAIN, P. A., & MANN, G. E. Ácidos graxos de cadeia curta como moduladores da sinalização redox na saúde e na doença. **Redox Biology**, v. 47, p. 102165, 2021.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, v. 51, n. 2, p. 155-163, 2004.

HAHM, Sahng-Wook; PARK, Jieun; SON, Yong-Suk. *Opuntia humifusa* stems lower blood glucose and cholesterol levels in streptozotocin-induced diabetic rats. **Nutrition Research**, v. 31, n. 6, p. 479-487, 2011.

HARTMAN, Leopold; LAGO, R. C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory practice**, v. 22, n. 6, p. 475-6 passim, 1973.

HORWITZ, W; LATIMER J. R; GEORGE, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC. 2005.

HOFF, Rodrigo et al. Phenolic compounds profile and main nutrients parameters of two underestimated non-conventional edible plants: *Pereskia aculeata* Mill.(ora-pro-nóbis) and *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (tarumã) fruits. **Food Research International**, v. 162, p. 112042, 2022.

JOVANOVSKI, Elena et al. Can dietary viscous fiber affect body weight independently of an energy-restrictive diet? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 111, n. 2, p. 471-485, 2020.

KIM, SUN MIN; KIM, A. YOUNG; LEE, KYOUNG IN. Nitric oxide production inhibitory effects of three caffeoylquinic acids isolated from hot water extract of *Eriobotrya japonica* L. leaves. **Korean Journal of Medicinal Crop Science**, v. 28, n. 4, p. 245-253, 2020.

Kinupp VF, Lorenzi H, Cavalleiro AD, Souza VC, Brochini V. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas.

Lee, J.; Jung, E.; Lee, J.; Kim, S.; Huh, S.; Kim, Y.; Kim, Y.; Byun, S.Y.; Kim, Y.-S.; Park, D. Isorhamnetin represses adipogenesis in 3T3-L1 cells. **Obesity** 2009, 17, 226–232.

LEAL, M. L.; ALVES, R. P.; HANAZAKI, N. Knowledge, use, and disuse of unconventional food plants. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2018.

LEAL, Mayana Lacerda; ALVES, Rubana Palhares; HANAZAKI, Natalia. Knowledge, use, and disuse of unconventional food plants. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2018.

LIU, Yufang; CAI, Junna; ZHANG, Fuxin. Functional comparison of breast milk, cow milk and goat milk based on changes in the intestinal flora of mice. **LWT**, v. 150, p. 111976, 2021.

MA, Yue et al. Physicochemical stability and in vitro digestibility of goat milk affected by freeze-thaw cycles. **Food Chemistry**, v. 404, p. 134646, 2023.

MACHADO, A. D. G. (2019). Desenvolvimento de farinha de xique-xique (*Pilosocereus gounellei*): caracterização nutricional, propriedades reológicas e sua utilização na elaboração de cookies. 134p. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

MAES, M. et al. Major differences in neurooxidative and neuronitrosative stress pathways between major depressive disorder and types I and II bipolar disorder. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 1, p. 141-156, 2019.

MAGALHÃES, B. E.; ALVES; SANTOS, W. N. L. Capacidade antioxidante e conteúdo fenólico de infusões e decocções de ervas medicinais. Almeida Júnior, S. **Produtos Naturais**

e Suas Aplicações: da Comunidade para o Laboratório. Guarujá, SP: Científica Digital, p. 234-247, 2021.

MAGALHÃES, B. E.; ALVES; SANTOS, W. N. L. Capacidade antioxidante e PEREIRA, M.C.; STEFFENS, R.S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P.F.; RIOS, A.D.O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S.H. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 19-24, 2013.

MANSOR, Muzammeer et al. Cross-reactivity analysis of milk proteins from different goat breeds with cow's milk allergens using a proteomic approach. **Molecular immunology**, v. 155, p. 44-57, 2023.

MARIUTTI, Lilian Regina Barros et al. The use of alternative food sources to improve health and guarantee access and food intake. **Food Research International**, v. 149, p. 110709, 2021.

MESSINA, C. M. ARENA, R. MORGHESE, M. SANTULLI, A. LIGUORI, G. INGLESE, P. Seasonal characterization of nutritional and antioxidant properties of *Opuntia ficus-indica* [(L.) Mill] mucilage. **Food Hydrocolloids**, v. 111 (2021).

MEDEIROS, I. U. et al. Genotoxicity and pharmacokinetic characterization of *Cereus jamacaru* ethanolic extract in rats. **Bioscience Reports**, v. 39, n. 1, 2019.

Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 216 de 22 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2004. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RESOLU%25CC%2587%25CC%2583O-RDC>> . Acesso em: 18 de novembro de 2023

MIZUTA, Narumi et al. Co-administration of d-Allulose and Soy Protein Favorably and Additively Alters Lipid Metabolism in Sprague-Dawley Rats. **ACS Food Science & Technology**, v. 1, n. 3, p. 418-426, 2021.

MORAIS, J. L. et al. Autochthonous adjunct culture of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 improved the techno-functional, physicochemical, and sensory properties of goat milk Greek-style yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 3, p. 1889-1899, 2022.

MORAIS, M. G. et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of fractions from ripe fruits of *Solanum lycocarpum* St. Hil.(Solanaceae) and putative identification of bioactive compounds by GC-MS and LC-DAD-MS. **Food Research International**, v. 156, p. 111145, 2022.

NASCIMENTO, A, F.; LUVIZOTTO, R.A.; LEOPOLDO, A.S.; LIMA-LEOPOLDO, A.P.; SEIVA, F.R.; JUSTULIN, L.A. Jr. et al. Long-term high-fat diet-induced obesity decreases the cardiac leptin receptor without apparent lipotoxicity. **Life Sciences**, v. 88, p. 1031-1038, 2011.

NEPALI P, SURESH S, PIKALE G, JHAVERI S, CHAITHANYA A, BANSAL M, ISLAM R, CHANPURA A. Hypertension and the role of dietary fiber. **Current Problems in Cardiology**. 2022 Apr 10:101203.

ONTARIO, M. L., et al. Potential prevention and treatment of neurodegenerative disorders by olive polyphenols and hydrox. **Mechanisms of Ageing and Development**, p. 111637, 2022.

Palma [*Opuntia ficus-indica* (l) Miller, Cactaceae]: morfologia, composição química, fisiologia, índices de colheita e fisiologia pós-colheita. 2008.

PAN, et al. Pomegranate juice powder as sugar replacer enhanced quality and function of set yogurts: Structure, rheological property, antioxidant activity and in vitro bioaccessibility. **LWT**, v. 115, p. 108479, 2019.

PARK, Y. W.; HAENLEIN, G. F. W. Milk production. **Goat Science and Production**, v. 12, n. 2, p. 275, 2010.

PARK, Y. W. et al. Impact of different gums on textural and microbial properties of goat milk yogurts during refrigerated storage. **Foods**, v. 8, n. 5, p. 169, 2019.

PAUDEL, D. et al. A review of health-beneficial properties of oats. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2591, 2021.

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

PEREIRA, M.C.; STEFFENS, R.S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P.F.; RIOS, A.D.O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S.H. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 19-24, 2013.

QADIR, Nafiya; WANI, Idrees Ahmed. Functional properties, antioxidant activity and in-vitro digestibility characteristics of brown and polished rice flours of Indian temperate region. **Grain & Oil Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 43-57, 2023.

ROOPASHREE, P. G., SHETTY, S. S., KUMARI, N. S. Effect of medium chain fatty acid in human health and disease. **Journal of Functional Foods**, v. 87, p. 104724, 2021.

SHARMA, H; RAO, P. S; SINGH, A. K. Fifty years of research on *Tinospora cordifolia*: From botanical plant to functional ingredient in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 118, p. 189-206, 2021.

SALGADO, Jocelim. Alimentos funcionais. Oficina de Textos, 2017.

SANTIS, D., et al. Improvement of the sensory characteristics of goat milk yogurt. *Journal of food science*, v. 84, n. 8, p. 2289-2296, 2019.

SANTOS, H. O. et al. Antioxidant activity and sensory evaluation of crispy salted snacks fortified with bamboo shoot rich in bioactive compounds. **Applied Food Research**, v. 1, n. 2, p. 100018, 2021.

SANTOS, C. C. M. P. Estudo psicofarmacológico comparativo da forma racêmica, (rs)-(±)-linalol, e seus enantiômeros, (s)-(+)- linalol e (r)-(-)-linalol em camundongos. 2008. 109 f. **Dissertação (Mestrado em Produtos naturais e sintéticos Bioativos: Farmacologia)** – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

SHETTY, K.; SARKAR, D. Introduction: Metabolic-Driven Ecological Rationale to Advance Biotechnological Approaches for Functional Foods. In: **Functional Foods and Biotechnology**. CRC Press, 2019. p. 1-4.

SLAVIN, Joanne L. Dietary fiber and body weight. *Nutrition*, v. 21, n. 3, p. 411-418, 2005.

SOUSA, Yasmim RF et al. Goat milk oligosaccharides: Composition, analytical methods and bioactive and nutritional properties. **Trends in Food Science & Technology**, v. 92, p. 152-161, 2019.

SOUZA, Pâmela Gomes et al. Food neophobia, risk perception and attitudes associations of Brazilian consumers towards non-conventional edible plants and research on sale promotional strategies. **Food Research International**, v. 167, p. 112628, 2023.

SOUZA, Luiz Enrique Vieira; DE AQUINO ASSIS, José Geraldo. Diversidade no prato: a experiência da Rede PANC-Bahia. **Revista Ingesta**, v. 1, n. 2, p. 38-48, 2019.

TEODORO, Anderson Junger et al. Bioactive compounds of food: their role in the prevention and treatment of diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, 2019.

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

TIAN, M., et al. Effects of polymerized goat milk whey protein on physicochemical properties and microstructure of recombined goat milk yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 6, p. 4903-4914, 2022.

TONDT, J.; BAYS, H. E. Concomitant medications, functional foods, and supplements: An Obesity Medicine Association (OMA) Clinical Practice Statement (CPS) 2022. **Obesity Pillars**, v. 2, p. 100017, 2022.

TSAI, Bruce Chi-Kang et al. Functional potato bioactive peptide intensifies Nrf2-dependent antioxidant defense against renal damage in hypertensive rats. **Food Research International**, v. 129, p. 108862, 2020.

VICIDOMINI, C.; ROVIELLO, V.; ROVIELLO, G. N. In silico investigation on the interaction of chiral phytochemicals from *Opuntia ficus-indica* with SARS-CoV-2 Mpro. **Symmetry**, v. 13, p. 1041, 2021

VIEIRA, A. E., et al. Mucilages of cacti from Brazilian biodiversity: Extraction, physicochemical and technological properties. **Food Chemistry**, v. 346, p. 128892, 2021.

VUOLO, Milena Morandi et al. Passion fruit peel intake decreases inflammatory response and reverts lipid peroxidation and adiposity in diet-induced obese rats. **Nutrition Research**, v. 76, p. 106-117, 2020.

YANG, Mei et al. Comparison of physicochemical properties and volatile flavor compounds of pea protein and mung bean protein-based yogurt. **Lwt**, v. 152, p. 112390, 2021.

YUMUK, Volkan et al. European guidelines for obesity management in adults. **Obesity Facts**, v. 8, n. 6, p. 402-424, 2015.

WANG, Yang et al. *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 attenuated high-fat diet induced anxiety-like behavior and social withdrawal of male mice by improving antioxidant capacity, intestinal barrier function and modulating intestinal dysbiosis. **Behavioural Brain Research**, v. 438, p. 114172, 2023.

WULANDARI, Galih Putri et al. Direct and indirect cost of obesity: a systematic review. **Glob J Health Sci**, v. 10, n. 9, p. 122, 2018.

ZHAO, Xinqi et al. Effects of dairy bioactive peptides and lotus seeds/lily bulb powder on flavor and quality characteristics of goat milk yogurt. **Food Bioscience**, v. 47, p. 101510, 2022.

ARTIGO 1

PÓ DE CACTO (*Opuntia Ficus-indica*) ADICIONADO AO IOGURTE CAPRINO:
IMPACTO NOS PARÂMETROS FÍSICOS, BIOQUÍMICOS, HEPÁTICOS E NA
METABOLÔMICA SÉRICA EM RATOS.

Cactus powder (*Opuntia ficus-indica*) added to goat yogurt: impact on physical parameters, liver and serum metabolomics in rats

Resumo

Objetivamos avaliar os efeitos do consumo do iogurte caprino adicionado ou não de pó de *Opuntia ficus-indica* (OFI), sobre os parâmetros físicos, bioquímicos e metabolômica sérica de ratos jovens. Os ratos foram distribuídos em 3 grupos: Grupo Controle (CG)- recebeu água destilada; Iogurte caprino (GY) e Iogurte caprino adicionado de pó de OFI (CGY), foram tratados com 2 mL do iogurte caprino adicionado ou não do OFI. Avaliou-se consumo alimentar, composição física, bioquímica sanguínea e ressonância magnética nuclear (RMN) do soro. No fígado mediu-se o malonaldeído (MDA) e no fígado e fezes triglicerídeos (TG) e colesterol total (TC). Os dados mostraram que houve aumento da gordura total, mesentérica, retroperitoneal e na glicemia do grupo CGY comparando com CG e GY. Os níveis de LDL foram menores nos grupos CGY e GY e a transaminase oxalacética, TC e TG hepático maiores. Os ácidos graxos hepáticos do GY apresentaram aumento dos poli-insaturados e redução dos saturados e monoinsaturados. Na RMN, houve uma tendência de separação a partir dos metabólitos ácido ascórbico, acetoacetato e 2-Hydroxybutyrate do grupo GY comparados ao CGY e CG. Sendo assim, GY caprino reduziu MDA e aumentou as PUFAS no fígado, e não alterou parâmetros bioquímicos. Quando o OFI foi adicionado ao iogurte, houve aumento das gorduras corporais, do risco coronariano, adiposidade e glicemia. No entanto, tanto o GY como o CGY induziram alterações hepáticas nos ratos.

Palavras-chave: plantas alimentícias não convencionais; ácidos graxos; colesterol; compostos bioativos; parâmetros somáticos.

INTRODUÇÃO

As plantas alimentícias não convencionais (PANCs) são espécies alimentícias que possuem potencial alimentar, no entanto, são pouco consumidas (Leal, Alves e Hanazaki, 2018). Essas plantas são caracterizadas por não serem cultivadas ou comercializadas, mas possuem uma ou mais partes comestíveis e podem ser adicionadas à dieta (Milião et al., 2022; Costa et al., 2022). Algumas espécies, como as cactáceas, especialmente *Opuntia ficus-indica* (OFI), têm sido objeto de diversos estudos voltados à benefícios à saúde (Dutra et al. 2023).

A OFI é uma cactácea, que no Brasil, está presente no bioma caatinga, principalmente na região Nordeste (Araújo, et al., 2021). Essa cactácea apresenta alto valor nutricional, sendo fonte de carboidratos, minerais, compostos fenólicos e fibras alimentares (Mendez et al., 2015; Vieira, et al., 2021; Butera et al., 2002; Kuti, 2004), sendo assim, é fonte de compostos antioxidantes e anti-inflamatórios (El-Mostafa et al., 2014) trazendo benefícios para a saúde do consumidor (SANTOS, et al., 2021). Estudos *in vivo*, em ratos, evidenciaram que esta cactácea é capaz de reduzir peroxidação lipídica cerebral e comportamento ansioso (Moura et al., 2023), apresentar atividade neuroprotetora cerebral (Farag et al., 2017), imunoprotetora (Smida et al., 2017) e auxiliar no tratamento da obesidade (Sirotkin 2022). Sendo assim, esta cactácea possui propriedades funcionais além de ser uma planta de fácil cultivo (Guo et al., 2020).

Outro alimento que apresenta propriedades funcionais é o leite caprino e seus derivados (Pan et al., 2019; Santis et al., 2019), pois possui características hipoalergênicas, melhor digestibilidade (Guo et al., 2020), apresentando um conteúdo lipídico diferenciado (Wei et al., 2019) e também compostos bioativos (Santos et al., 2023). Estudos com animais mostram que os peptídeos bioativos presentes no leite caprino e/ou de seus derivados desempenham diversos benefícios, como atividade anti-inflamatória (Asis et al., 2016; Rodrigues et al., 2018), modulação benéfica da microbiota intestinal (Bidô et al., 2023), redução do peso corporal e massa gorda (Delgadillo et al., 2020), melhora a homeostase da glicose (Han et al., 2022) e redução da oxidação lipídica (Kalyan et al., 2018). Além disso, outro composto que chama atenção nos lácteos caprinos é a composição de compostos e peptídeos bioativos (Hammam et al., 2021; Nayki et al., 2021). Os peptídeos bioativos são substâncias químicas ativas no organismo e podem desempenhar diversas funções biológicas (Zang et al., 2023). Estudos indicam que os peptídeos obtidos a partir da hidrólise do leite e soro caprino possuem atividade anti-hipertensiva, antioxidante, hipoglicemiante, anti-inflamatória e imunomoduladora (Ahmed et al., 2015; Hernandez et al., 2011; Du et al., 2022; Santos et al., 2023).

Pesquisadores têm desenvolvido alimentos à base de leite caprino e adicionado vegetais a estes produtos, melhorando assim suas características nutricionais e sensoriais (Bezerril, et al., 2021; Dantas et al., 2020). Além disso, o uso de alimentos funcionais isoladamente ou combinações podem melhorar parâmetros bioquímicos e prevenir diversas doenças (Sirotkin 2022). Os estudos supracitados mostram diversos benefícios do consumo isolado tanto dos lácteos caprinos como da OFI, no entanto, nenhum grupo de pesquisa se propôs a adicionar OFI ao iogurte caprino e avaliar os seus impactos na saúde hepática e física de roedores. Assim, hipotetizamos que o iogurte caprino adicionado de pó de OFI pode melhorar parâmetros físicos, bioquímicos e hepáticos de ratos. Para isso, objetivamos avaliar os efeitos do consumo do

iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI, sobre os parâmetros físicos, bioquímicos e metabolômica sérica de ratos jovens.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRA

Os cladódios de OFI foram coletados na cidade de Cuité/PB [6°29'46.0"S 36°09'34.7"W] e o leite caprino foi obtido de uma pequena produção de cabras da raça Toggenburg, localizada na cidade de Nova Floresta/PB [6°27'33.2"S 36°12'04.6"W]. A cultura starter (Y 472, Sacco, Campinas, São Paulo, Brasil) composta por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e o açúcar refinado (União®, São Paulo, Brasil), foram obtidos comercialmente.

2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Inicialmente, foi realizado o processamento do OFI; após esse procedimento, foram elaborados dois iogurtes caprinos, um adicionado 7% de pó de OFI e outro sem adição. Posteriormente, foram determinados e quantificados os compostos bioativos e o perfil de ácidos graxos desses iogurtes.

Para o ensaio biológico, foram utilizados 30 ratos machos adultos da linhagem Wistar, os quais foram divididos em 3 grupos: Grupo controle (GC), que recebeu água destilada; Grupo Iogurte caprino (GY), que recebeu apenas o iogurte; e o grupo Iogurte caprino com cacto (CGY) que recebeu a formulação de iogurte caprino adicionado de pó de OFI. Estes grupos foram tratados com 2 mL de iogurte caprino, adicionado ou não de pó de OFI, por um período de 30 dias. Durante o período de administração dos iogurtes, os animais terão o peso e consumo de ração aferidos semanalmente. Após o período de suplementação, os animais foram eutanasiados para coleta de material biológico.

2.3 PROCESSAMENTO DO CACTO EM PÓ

O pó de OFI foi elaborado seguindo o método descrito por Machado (2019), com modificações. A OFI foi coletada em um único dia. Após a retirada dos espinhos, os cladódios foram higienizados com água corrente e sanitização com hipoclorito de sódio (100 ppm), conforme preconiza a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)- RDC nº 216/2004 (BRASIL, 2004), em seguida, foram cortados em fatias de aproximadamente 1 centímetro de espessura, com faca de aço inox estéril. Posteriormente, a OFI foi levada para a estufa de circulação de ar (Quimis, estufa microprocessada com circulação forçada - Q314M,

Brasil) para secagem ($50 \pm 1^\circ\text{C}$) até atingir 4% de umidade, o que levou aproximadamente 48h. O pó de OFI foi triturada em um liquidificador e peneirada em uma peneira de 230 mesh em agitador de peneiras (Bertel®, Caieiras, São Paulo) em seguida, passou pelo moinho de facas e por fim (7Lab Micro910), foi embalada em saco de polipropileno e congelada a $-20 \pm 1^\circ\text{C}$.

2.4 ELABORAÇÃO DO IOGURTE CAPRINO

Inicialmente, foi adicionado ao leite caprino pasteurizado ($65 \pm 1^\circ\text{C}/30\text{min}$) 10% de sacarose, e, posteriormente, este leite foi submetido a um tratamento térmico ($90 \pm 1^\circ\text{C}/10\text{min}$). O leite foi resfriado em seguida a $45 \pm 1^\circ\text{C}$, e em seguida, foi inoculada ao leite a cultura starter, composta por *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, foi inoculada em uma concentração de 0,4g/L. O processo de fermentação ocorreu em uma incubadora BOD (Marconi®, modelo MA 415, Brasil) a uma temperatura de $45 \pm 1^\circ\text{C}$ por 4 horas. A finalização da fermentação do iogurte ocorreu com base na firmeza do coágulo e na determinação do pH, que atingiu no máximo 4,5. Posteriormente, o iogurte foi resfriado a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ e, em seguida, o coágulo foi quebrado por meio de agitação manual com um bastão de vidro. Em seguida, foi adicionado o pó de OFI, na concentração de 7%, seguindo a metodologia descrita por Fabersani e colaboradores (2018).

2.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS IOGURTES

A caracterização dos iogurtes foi feita a partir da análises de atividade de água a 25°C que foi determinada com a leitura feita no equipamento Aqualab (Meter ® , AquaLab Série 4TEV, São José dos Campos, SP, Brasil); teor de umidade, analisada a partir da secagem do produto na estufa a 105°C , até massa constante; teor de cinzas (resíduo mineral fixo - FMR) que foi quantificado por meio da incineração em mufla (Jung ® , modelo 0612, Blumenau, SC, Brasil) a 550°C ; a quantificação de proteínas ocorreu pelo método de micro-Kjeldahl; e foi usado o método de redução de Fehling (AOAC, 2019) para determinar os carboidratos; o método de Folch, Less e Sloane-Stanley (1957) foi usado para determinação e quantificação de gordura. A caracterização dos iogurtes está demonstrada na Tabela 1.

Para obtenção dos extratos lipídicos dos iogurtes, o método de Folch, Less e Sloane-Stanley (1957) foi usado. Com esses extratos foram obtidos os ésteres metílicos seguindo a metodologia descrita por Hartman e Lago (1973). Já a quantificação e identificação dos ésteres metílicos foi realizada por um cromatógrafo a gás Ciola & Gregori Ltda (modelo CG-Master) com um detector de ionização de chamas. Para a análise cromatográfica foi utilizada uma coluna

de polietilenoglicol (Carbowax 20M), com uma sílica fundida de 30 metros de comprimento, 0,53 milímetros de diâmetro e 0,25 µm de espessura de filme da fase estacionária. O vaporizador e o detector estavam com as temperaturas de 150°C e 200°C, respectivamente. O forno ficou programado a uma temperatura de 80°C por 30 minutos, aumentando 10°C/minuto até chegar aos 180°C. A fase móvel foi hidrogênio, com vazão de 5mL/minuto. 1µl foi injetado, com razão de divisão 1:25. Os ácidos graxos foram caracterizados comparando o espectro de massa obtido com os padrões também injetados no CG-MS.

Tabela 1 – Caracterização dos Iogurtes.

Parameters	Groups	
	GY	CGY
Water activity	0.9827 ± 0.00	0.9766 ± 0.00
Moisture (g/100 g)	82.55 ± 0.34	77.38 ± 0.25
Fixed mineral residue (g/100 g)	0.93 ± 0.00	1.88 ± 0.01
Proteins (g/100 g)	4.13 ± 0.15	5.10 ± 0.42
Fat (g/100 g)	3.21 ± 0.09	2.88 ± 0.02
Total carbohydrates (g/100 g)	8.99 ± 0.48	12.27 ± 0.39
Total Energy (Kcal)	81.37	95.40
Fatty acids		
SATURATED		
Capric acid C10:0	0.69	0.93
Caproic acid C6:0	0.09	0.05
Lauric acid C12:0	0.13	2.17
Myristic acid C14:0	4.33	8.14
Pentadecanoic acid C15:0	2.73	0.94
Palmitoleic acid	0.39	0.42
Palmitic acid C16:0	24.81	31.54
Margaric acid C17:0	0.20	0.81
Stearic acid C18:0	10.98	19.56
TOTAL	50.1	65.5
MONOUNSATURATED		
Oleic acid C18:1ω9	27.43	28.83
TOTAL	27.43	28.83
POLYUNSATURATED		
Linoleic Acid C18:2ω6c	19.12	4.13
TOTAL	19.12	4.13
SUMS AND RATIOS		
PUFA/SFA	0.38	0.06
ω3	-	-

α6

19.12

4.13

Tabela 1 – Caracterização dos iogurtes. GY – Iogurte Caprino. CGY – Iogurte Caprino com pó de OFI.

2.6 ENSAIO BIOLÓGICO

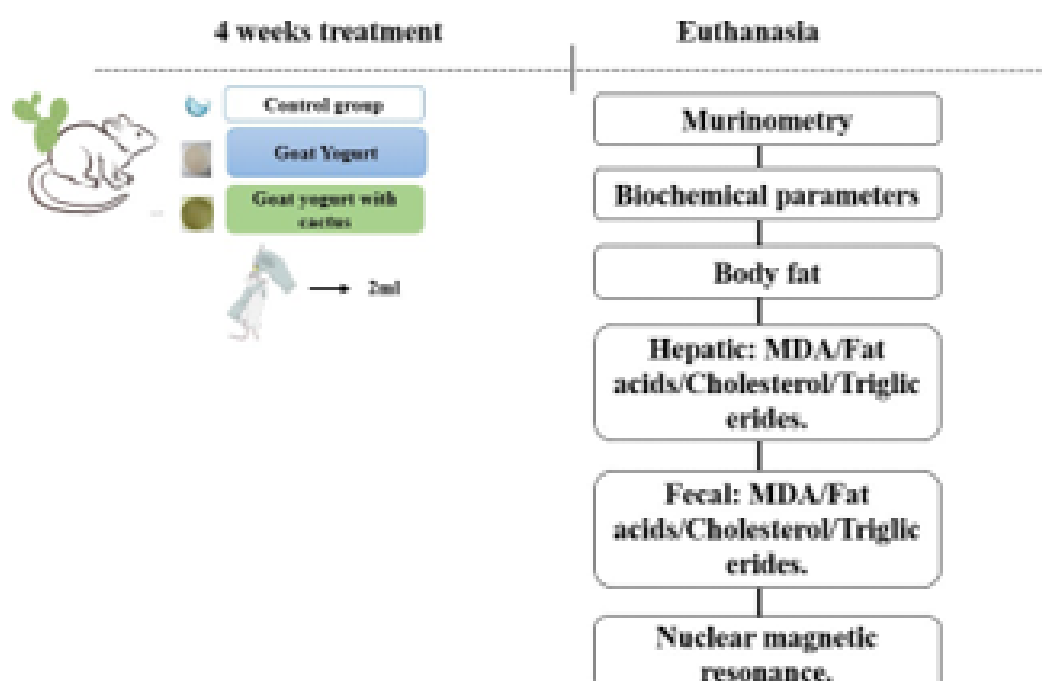
2.6.1 Animais e Dieta

The study protocol was conducted in accordance with the Guidelines Research: Reporting of In Vivo Experiments (ARRIVE) (Percie Du Sert et al., 2020). and was submitted to and approved by the Ethics Committee on the Use of Animals - CEUA of the Rural Health and Technology Center - CSTR/UFCG, protocol number 62/2021.

Foram utilizados 30 ratos machos adultos da linhagem Wistar provenientes do Biotério de criação da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) com idade aproximada de 90 dias e peso 250 ± 50 g. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (3 animais por gaiola), em condições-padrão: temperatura $22 \pm 1^\circ\text{C}$, com ciclo claro-escuro (12 horas, início da fase clara às 06:00h), umidade de 60 ± 5 %, recebendo ração e água *ad libitum*. Os ratos receberam o iogurte caprino adicionado ou não do pó de OFI, por via oral (gavagem), e dieta comercial da marca Nuvilab®, durante 30 dias. Houve randomização para divisão dos animais em 3 grupos: Grupo Controle (GC) que recebeu água destilada; Iogurte caprino (IC) e Iogurte caprino adicionado de pó de OFI (CGY), foram tratados com 2 mL do iogurte caprino.

A dose administrada foi definida de acordo com Fabersani et al. (2018) que administrou 2 mL de iogurte caprino adicionado de farinha de yacon com efeitos metabólicos benéficos em ratos com dieta rica em gordura.

Figura 1 – Desenho Experimental



2.6.2 Peso Corporal e Consumo Alimentar

Os animais tiveram o peso corporal e o consumo de ração aferidos semanalmente, a partir do primeiro dia de experimento, em balança Balmak® (modelo ELP – 10, Santa Bárbara do Oeste/SP, Brasil), com variação de 20 a 10.000 g). O consumo representou a diferença entre a ração ofertada e o rejeito, seguindo a fórmula: Ingestão (g) = cota oferecida (g) - rejeição limpa (g). O alimento que não foi consumido e permaneceu na área externa da gaiola foi considerado como rejeito limpo (VADIVEL; PUGALENTHI, 2010).

2.7 AVALIAÇÃO FÍSICA

Foi realizada avaliação física dos animais, além do peso corporal, fora aferidos comprimento naso-anal, circunferência torácica (TC) e circunferência abdominal (AC), com isso, foi feita a relação da circunferência abdominal/torácica. Além disso, foi analisado o índice de massa corporal (IMC) e índice de Lee em todos os animais, seguindo a metodologia descrita por Novelli e colaboradores (2007). Foi avaliada a abundância relativa de gordura corporal por meio da pesagem das gorduras mesentérica, retroperitoneal e epididimal.

Além disso, foi possível determinar os índices de risco coronariano (IRC) e o índice de risco cardiovascular (IRCV), por meio das equações: $IRC = CT/HDL$; $IRCV = TG/HDL$, respectivamente, conforme a metodologia descrita por Friedewald e colaboradores (1972); Alladi; Shanmugari (1989). Já o índice de adiposidade (IAD) foi calculado usando a fórmula:

[peso da gordura corporal (epididimal + visceral + retroperitoneal)/peso corporal] x 100 (NASCIMENTO et al., 2011).

2.8 EUTANÁSIA

Após o tratamento com os iogurtes, os animais foram decapitados para coleta de material biológico. O sangue foi utilizado para determinações bioquímicas. As gorduras mesentérica, retroperitoneal e epididimal foram retirados e pesados. O fígado foi coletado e congelado (- 18 °C) para posterior análise do perfil de ácidos graxos e de malondialdeído (MDA).

2.9 ANÁLISE DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS EM MATERIAIS BIOLÓGICOS

2.9.1 Coleta dos tecidos

Após coletar o fígado, bem como o material fecal dos animais, foram pesados. Após pesados, os materiais foram colocados em potes coletores estéreis e armazenados a -20°C para posterior análise.

2.9.2 Transesterificação dos ácidos graxos

Para preparo das amostras, foi realizada a metilação dos ácidos graxos presentes para elaborar os extratos lipídicos, seguindo a metodologia descrita por Hartman e Lago (1973). Foi retirado uma alíquota do extrato lipídico para medir e calcular o teor de gordura nesses extratos, como descrito por Folch e colaboradores (1957). Posteriormente, 1mL de padrão interno (C19:0) foi misturado junto com uma solução saponificante (KOH). Em seguida, a mistura foi levada para aquecimento em fluxo, por 4 minutos e a solução de esterificação foi adicionada, deixando a solução por mais 3 minutos em aquecimento. Após esfriar, a amostra sofre lavagens subsequentes com éter, hexano e água destilada para obtenção de um extrato (com os ésteres metílicos e solventes) e armazenados em vidros âmbar identificados, até secagem completa dos solventes. Após secagem, o extrato foi suspenso em 1mL de hexano e embalados em vials para análise de cromatografia gasosa.

2.9.3 Análise cromatográfica gasosa

O perfil de AG foi determinado por cromatografia gasosa com massa em um espectrômetro (VARIAN 430-GC, Califórnia, EUA), acoplado a uma coluna capilar de sílica (CP WAX 52 C B, VARIAN, Califórnia, EUA), com dimensões 60m x 0,25 mm e um filme de espessura de 0,25 µm. Como gás de arraste, foi usado o hélio (vazão de 1mL/min). A

temperatura inicial do forno foi de 100°C, programada para atingir 240°C, aumentando 2,5°C por minuto, permanecendo 30, totalizando uma corrida de 86 min. A temperatura do injetor foi mantida em 250°C, e a do detector a 260°C. Aliquotas de 1,0 µl dos extratos esterificados foram injetados em um injetor Split. Os cromatogramas foram registrados usando Software do sistema de dados de cromatografia Galaxie. Os ácidos graxos foram identificados comparando os tempos de retenção dos ésteres metílicos da amostra com padrões Supelco Mix C4-24/C19. Os dados dos ácidos graxos foram quantificados pela normalização das áreas dos ésteres metílicos e foram expressos como uma porcentagem por área, com adaptações (DIAS et al., 2019).

2.10 METABOLÔMICA DO SORO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) DE ¹H

O método descrito por Del Coco et al., (2019), com modificações, foi usado para realizar a análise metabolômica do soro. O sangue que foi coletado e centrifugado (Centrífuga de Bancada Digital – NT 810, marca Novatecnica, Piracicaba – São Paulo, Brasil) a uma força G de 1308 por 15 minutos para obtenção do soro que foi congelado a -80°C. Para a análise, as amostras de soro foram descongeladas, posteriormente, foi retirada uma alíquota de 175 µL do soro que foi misturada com 300µL de uma solução (potassium buffer, pH 7.1) e 75 mL de D₂O. Após homogeneizada, para análise espectral de ¹H RMN, essa solução foi transferida para um tubo de NMR de 5mm de diâmetro, 7 polegadas de comprimento.

Os espectros ¹H RMN unidirecionais foram analisados em um espectrômetro Bruker ASCEND 400 MHz (Bruker, Coventry, Reino Unido), a uma temperatura de 300 K. Os parâmetros para obtenção dos espectros foram: números de scans: 128, time domain: 25 K, dummer scan: 16, acquisition time: 0,8 s, spectral windows 40 ppm e d20: 0,8 ms. Apodização com de linha exponencial equivalente a 0,8 Hz foi aplicado aos FIDs. Os deslocamentos químicos para todas as amostras foram referenciados para TPS (3-(trimethylsilyl) propionic-2,2,3,3-d₄ acid) a 0,00 ppm.

2.11 PERFIL LIPÍDICO, GLICÊMICO E ENZIMAS HEPÁTICAS E RENAS

O plasma obtido após a centrifugação do sangue (Centrífuga de Bancada Digital – NT 810, marca Novatecnica, Piracicaba – São Paulo, Brasil) a uma força G de 1308 por 15 minutos, foi utilizado para fazer a dosagem de colesterol total, HDL, triglicerídeos, transaminase pirúvica (TGP), transaminase oxalacética (TGO), creatinina, ureia e glicemia. Estas análises foram feitas

usando o método enzimático Kit comercial Labtest (Belo Horizonte, Brasil) e a leitura foi realizada em espectrofotômetro, com absorbância determinada para cada teste.

2.12 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE COLESTEROL, TRIGLICÉRIDES E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO FÍGADO E FEZES

O método descrito por Folch; Less; Stanley (1957) foi usado para a análise de extração dos lipídios hepáticos. Após a extração dos lipídios, foram analisados as concentrações de triglicerídeos e colesterol hepático e fecal, por meio de método enzimático, kit comercial Labtest (Minas Gerais, Brasil) e a leitura realizada em espectrofotômetro, a uma absorbância de 500 nm. Os ácidos graxos foram quantificados de acordo com o método descrito no ponto 2.6.

2.13 CONCENTRAÇÃO DE MALONDIALDEÍDO (MDA) HEPÁTICO

Para se iniciar a determinação do MDA, a amostra do tecido hepático foi descongelada e posteriormente pesadas. As amostras foram suspensas em uma solução tampão Tris-HCl 1:5 (p/v) e homogeneizadas por 15 segundos. A suspensão resultante foi homogeneizada por 2 minutos a 2500 x g a 4°C por 10 minutos. Os sobrenadantes foram usados para determinar o conteúdo de MDA. Os resultados foram expressos em mol/g tecido (ESTERBAUER; CHEESEMAN, 1990).

2.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O TopSpin versão 4.1.1 foi o software usado para o processamento dos espectros. Para análise, os espectros de RMN foram submetidos a alguns tratamentos, como referenciamento, correção de linha de base, alinhamento, correção de fase, remoção do pico da água que estava em 5,07-7,60 ppm, normalização da área total do espectro, e, por fim, obtenção dos binning com range de 0 a 9 ppm, com buckets de 0,025 ppm.

A análise dos componentes principais (PCA) foi realizada pelo software Past versão 4.03 de 2020, com os dados obtidos do espectro de binning foram submetidos a normalização por área e a PCA foi obtida com cross validation.

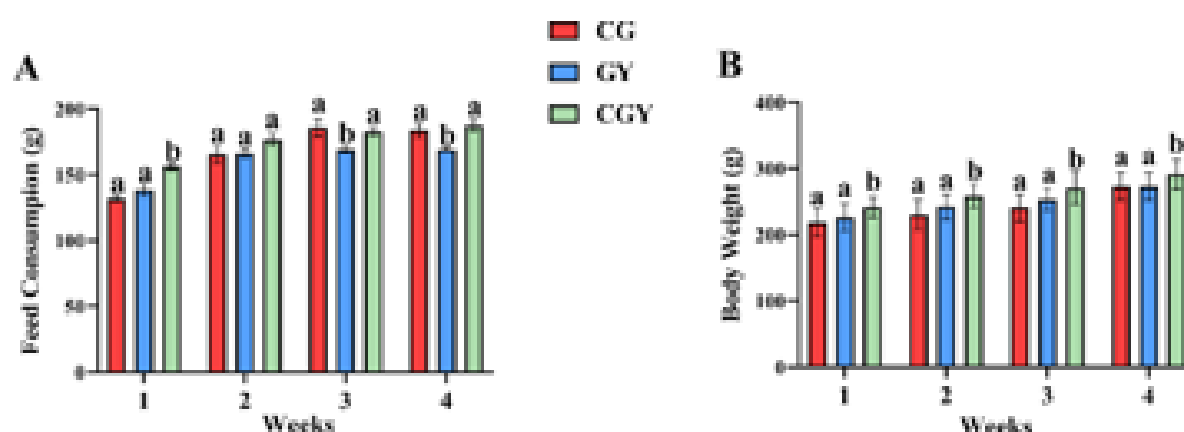
As demais análises foram expressas em média $\pm$ erro padrão da média (SEM). Foi usado também o teste de normalidade Shapiro-Wilk para aplicar e analisar por ANOVA two-way seguido pelo teste de Tukey, quando este foi necessário. Foi considerado $p \leq 0,05$ estatisticamente significativo.

3 RESULTADOS

3.1 CONSUMO ALIMENTAR E PESO CORPORAL

A aferição do consumo alimentar e peso corporal dos ratos realizada diariamente durante todo o experimento (Figura 2). Foi possível observar que os ratos CGY consumiram mais ração na primeira semana, quando comparado aos demais grupos ($p \leq 0.05$). Nas semanas seguintes, não houve diferença entre o CGY comparado ao CG ($p \geq 0.05$) (Figura 2A). Em relação ao peso corporal, foi observado um aumento nos CGY quando comparado aos grupos CG e GY durante todo o período analisado ($p \leq 0.05$) (Figura. 2B).

Figura 2 – Peso e consumo de ratos que consumiram ou não iogurte caprino adicionado de pó de OFL.



CG – Grupo Controle. GY – iogurte Caprino. CGY – iogurte Caprino pó de cacto. A– Weekly consumption. B – Body weight. O teste estatístico usado foi One Anova way seguido por Tukey com um nível de significância. Letras diferentes entre as barras significa diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$).

3.2 AVALIAÇÃO FÍSICA

Na aferição dos parâmetros físicos foi possível observar que na circunferência abdominal, torácica, IMC e índice de Lee não houve diferença entre os grupos ($p > 0.05$). Na relação AC/TC foi observado um aumento no CGY comparado aos demais grupos ($p \leq 0.05$). Analisando a gordura corporal, observou-se um aumento significativo da gordura total, mesentérica e retroperitoneal nos ratos do grupo CGY, quando comparado aos grupos CG e GY ($p \leq 0.05$). A gordura epididimal foi similar entre os grupos ($p \leq 0.05$) (Tabela 2).

Analisando o índice de adiposidade (AI) e o risco coronariano (CRI), foi observado um risco aumentado no grupo CGY quando comparado aos demais grupos ($p \leq 0.05$). Além disso, foi observado um índice de adiposidade aumentado no grupo GY comparado ao GC ($p \leq 0.05$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Parâmetros físicos de ratos que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI.

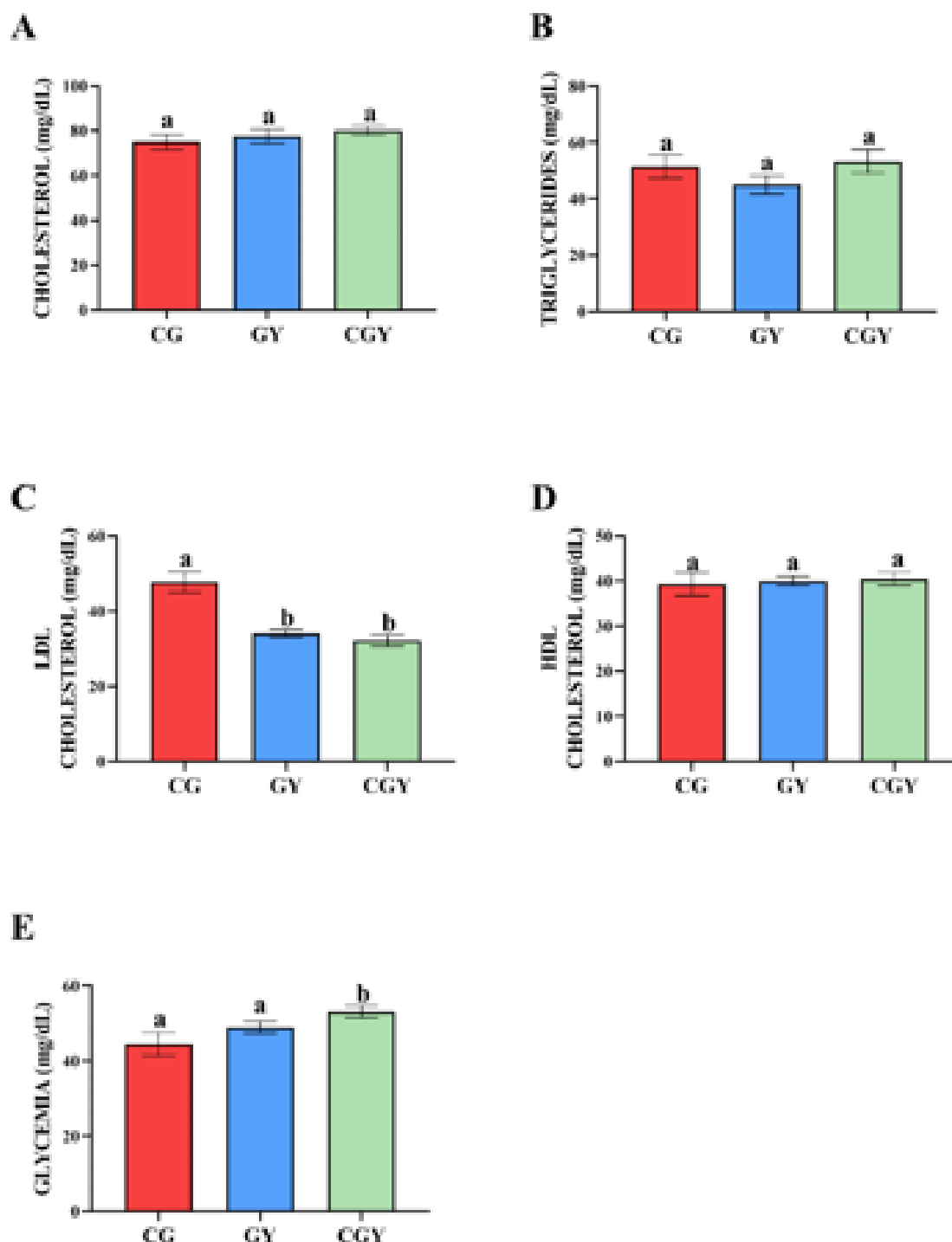
	Murine anthropometric		
	GC	GY	CGY
TC (cm)	13.00 ± 0.89 ^a	13.00 ± 0.53 ^a	13.00 ± 0.75 ^a
AC (cm)	15.00 ± 0.89 ^a	15.00 ± 0.53 ^a	15.00 ± 0.75 ^a
AC/TC	1.15 ± 0.01 ^a	1.14 ± 0.00 ^a	1.18 ± 0.07 ^b
Body length (cm)	22.00 ± 0.48 ^a	22.00 ± 0.01 ^a	22.00 ± 0,51 ^a
BMI (g/cm²)	0.59 ± 0,04 ^a	0.55 ± 0.03 ^a	0.60 ± 0.05 ^a
Lee index	4.33 ± 0.34 ^a	4.12 ± 0.29 ^a	4.46 ± 0.37 ^a
	Absolute mass of fat		
Total fat (%bw)	3.19 ± 0.47 ^a	3.47 ± 0.33 ^a	3.84 ± 0.22 ^b
Mesenteric fat (%bw)	1.12 ± 0.16 ^a	1.14 ± 0.09 ^a	1.29 ± 0.15 ^b
Retroperitoneal fat (%bw)	1.02 ± 0.31 ^a	1.05 ± 0.29 ^a	1.47 ± 0.26 ^b
Epididymal fat (%bw)	1.04 ± 0.13 ^a	1.02 ± 0.19 ^a	0.94 ± 0.13 ^a
Coronary Risk Index	1.15 ± 0.19 ^a	0.99 ± 0.08 ^a	1.29 ± 0.28 ^b
Cardiovascular Risk Index	1.29 ± 0.32 ^a	1.22 ± 0.25 ^a	1.28 ± 0.28 ^a
Adiposity Index	31.62 ± 4.40 ^a	37.42 ± 4.12 ^b	44.11 ± 7.97 ^c

CG – Grupo Controle. GY – Iogurte Caprino. CGY – Iogurte Caprino com pó de OFI. TC – Thoracic Circumference. AC – Abdominal Circumference. BMI – Body Mass Index. O teste estatístico usado foi One Anova way seguido por Tukey com um nível de significância. Letras diferentes entre as colunas significa diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$).

3.3 PERFIL LIPÍDICO E GLICÊMICO

Quanto ao perfil lipídico foi observado que não houve diferença nas concentrações de colesterol total (Figura 3A), triglicérides (Figura 3B) e HDL (Fig. 3D) entre os grupos ($p \geq 0,05$). Os níveis de LDL (Figura 3C) nos grupos CGY e GY foram menores comparados ao grupo controle. Em relação a glicemia do soro (Figura 3E), o grupo CGY apresentou maior concentração comparando aos demais grupos ($p \leq 0,05$).

Figura 3 – Perfil lipídico e glicêmico de ratos que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI

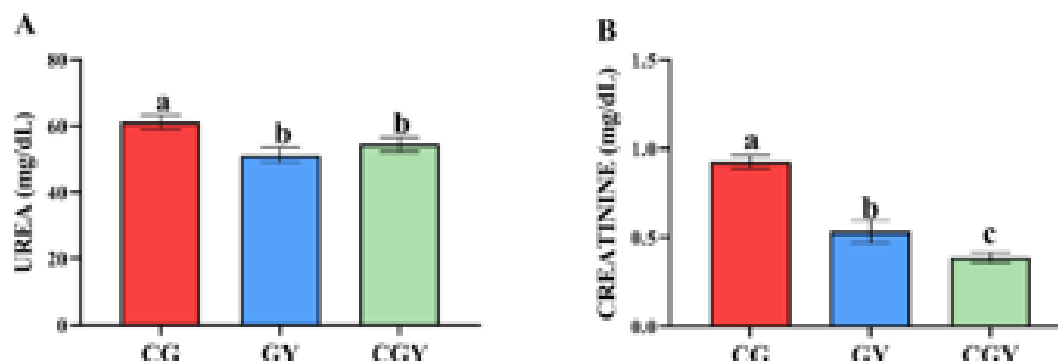


CG – Grupo Controle. GY – leite Caprino. CGY – leite Caprino com pó de OFL (A) – Colesterol. (B) – Triglicerídeos. (C) HDL-Colesterol. (D) – LDL Colesterol. (E) – Glicose. O teste estatístico usado foi One Anova way seguido por Tukey com um nível de significância. Letras diferentes entre as barras significa diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$).

3.4 FUNÇÃO RENAL

Foi possível observar uma redução da ureia (Figura 4A) e creatinina (Figura 4B) plasmática, nos grupos GY e CGY quando comparado ao grupo controle ($p \leq 0,05$).

Figura 4 – Enzimas renais de ratos que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de OFI

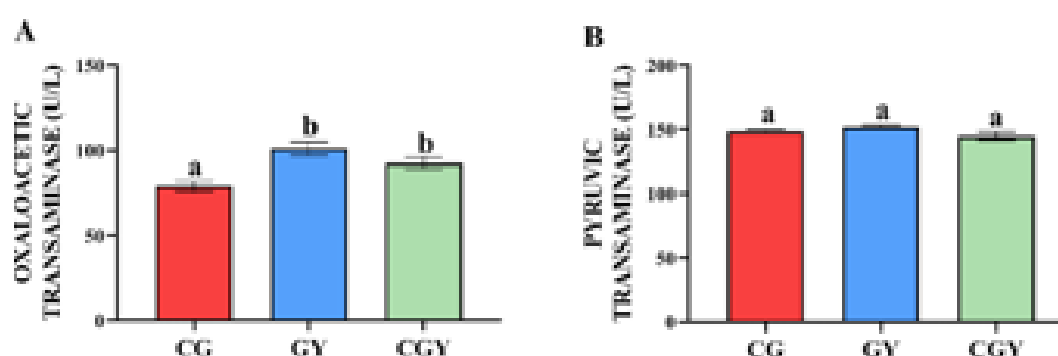


CG – Grupo Controle. GY – Iogurte Caprino. CGY – Iogurte Caprino com pó de OFI (A) – Urea. (B) – Creatinine. O teste estatístico usado foi One Anova way seguido por Tukey com um nível de significância. Letras diferentes entre as barras significa diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$).

3.5 ENZIMAS HEPÁTICAS

Analisando as enzimas hepáticas, é possível observar um aumento nas concentrações sanguíneas de Transaminase oxalacética (Figura 5A) nos grupos experimentais GY e CGY comparados ao grupo controle ($p \leq 0,05$). Nas concentrações de Transaminase pirúvica (Figura 5B), não houve diferença entre os grupos ($p \geq 0.05$).

Figura 5 – Enzimas hepáticas de ratos que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de *Opuntia ficus-indica*



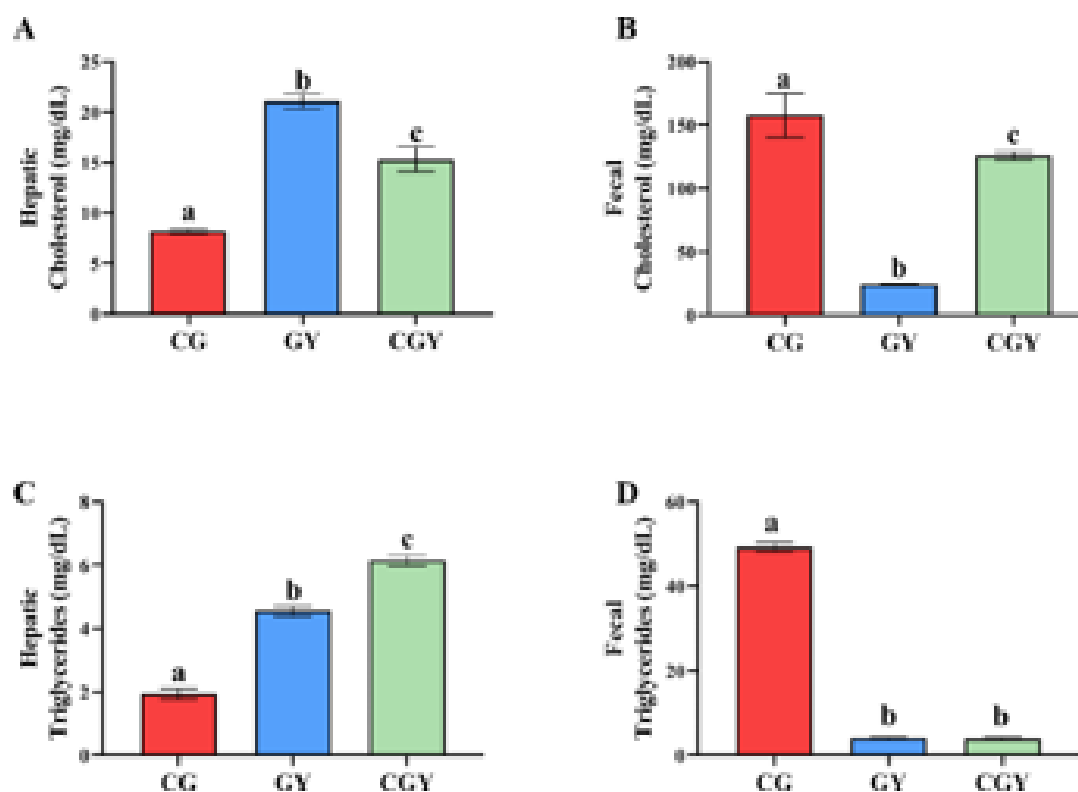
CG – Grupo Controle. GY – Iogurte Caprino. CGY – Iogurte Caprino com pó de OFI. A – Oxaloacete Transaminase. B – Pyruvic Transaminase. O teste estatístico usado foi One Anova way seguido por Tukey com um nível de significância. Letras diferentes entre as barras significa diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$).

3.6 CONCENTRAÇÕES DE COLESTEROL, TRIGLICÉRIDES E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS HEPÁTICO E FECAL

Quanto às concentrações de colesterol total (TC) (Figura 6A) e triglicérides (TG) (Figura 6C) hepático, observamos que o TC hepático do GY foi maior do que todos os grupos, e no grupo CGY foi maior comparado ao CG ($p \leq 0.05$). O TG hepático foi maior no CGY comparado a todos os grupos e no GY foi maior que no CG ($p \leq 0.05$). Além disso, o TC fecal foi reduzido no grupo GY comparado aos demais grupos, assim como no CGY quando comparado ao CG (Figura 6B) ($p \leq 0.05$). Além disso, foi observado uma redução na concentração de TG fecal (Figura 6D) nos grupos CGY e GY comparando-os ao CG ($p \leq 0.05$).

Em relação aos perfil de ácidos graxos hepáticos, o grupo GY apresentou uma redução média de 33% na concentração de ácido graxo saturado (SFA) comparado ao grupo controle ($p \leq 0.05$). Nos ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), observamos uma redução de 28% nos ratos do grupo GY quando comparados ao grupo controle ($p \leq 0.05$); enquanto no grupo CGY não teve diferença do grupo controle ($p \geq 0.05$). Nos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) do grupo GY houve um aumento nas concentrações hepáticas de 24% quando comparados aos demais grupos ($p \leq 0.05$). Em relação aos ácidos graxos excretados nas fezes, observou-se um aumento significativo de 222% no grupo GY e de 150% no grupo CGY quando comparados ao grupo controle ($p \leq 0.05$) (Tabela 3).

FIGURA 6- Concentrações de colesterol e triglicérides hepático e fecal de ratos que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de *Opuntia ficus-indica*.



CG – Grupo Controle. GY – iogurte Caprino. CGY – iogurte Caprino com pó de OFI. A – Hepatic cholesterol. B – Fecal cholesterol. C – Hepatic triglycerides. D – Fecal triglycerides. O teste estatístico usado foi One Anova way seguido por Tukey com um nível de significância. Letras diferentes entre as barras significa diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$).

Tabela 3 – Perfil de ácidos graxos do fígado e fezes de ratos que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de *Opuntia ficus-indica*

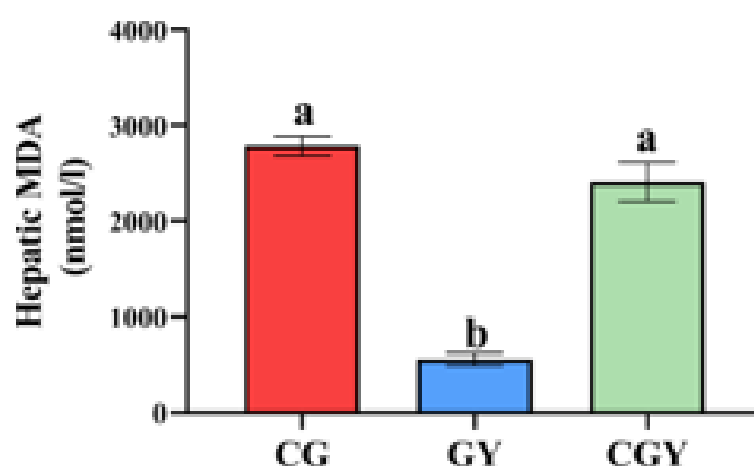
Fatty acids	Carbon	Groups					
		Liver			Feces		
		CG	GY	CGY	CG	GY	CGY
SATURATED							
Capric acid	C10:0	-	-	-	-	3.82 ± 0.03	-
Lauric acid	C12:0	-	-	-	-	2.17 ± 0.06	-
Myristic acid	C14:0	-	-	-	0.58 ± 0.02 ^a	6.96 ± 0.01 ^b	2.86 ± 0.02 ^c
Pentadecano acid	C15:0	-	-	-	-	0.76 ± 0.03 ^a	2.05 ± 0.08 ^b
Palmitic acid	C16:0	18.00 ± 0.02 ^a	12.50 ± 0.03 ^b	20.36 ± 0.06 ^a	19.48 ± 0.05 ^a	25.54 ± 0.02 ^b	24.73 ± 0.04 ^a
Stearic acid	C18:0	20.49 ± 0.06 ^a	17.19 ± 0.02 ^b	20.03 ± 0.10 ^a	8.11 ± 0.04 ^a	23.45 ± 0.01 ^b	12.64 ± 0.02 ^c
Margaric Acid	C17:0	-	-	0.58 ± 0.01 ^a			
TOTAL		38.49	29.69	40.97	28.17	62.7	42.28
MONOUNSATURATED							
Oleic acid	C18:1ω9	9.72 ± 0.06 ^a	7.06 ± 0.03 ^b	9.61 ± 0.06 ^a	26.57 ± 0.06 ^a	27.84 ± 0.10 ^a	21.50 ± 0.02 ^b
TOTAL		9.72	7.06	9.61	26.57	27.84	21.50
POLYUNSATURATED							
Linoleic Acid	C18:2ω6c	18.36 ± 0.06 ^a	15.74 ± 0.02 ^b	18.78 ± 0.07 ^a	27.59± 0.02 ^a	4.48 ± 0.02 ^b	20.14 ± 0.02 ^c
Arachidonic acid	C20:4ω6c	23.84 ± 0.10 ^a	33.26 ± 0.02 ^b	24.58 ± 0.06 ^a	1.3 ± 0.01 ^a	-	1.27 ± 0.03 ^a
Docosahexaenoi c acid	C22:6ω3	2.07 ± 0.04 ^a	5.46 ± 0.02 ^b	2.09 ± 0.02 ^a	-	-	-
TOTAL		44.27	54.46	45.45	28.89	4.48	21.41
SUMS AND RATIOS							
PUFA/SFA		1.15	1.83	1.10	1.02	0.07	0.50
ω3		2.07	5.46	1.83	-	-	-
ω6		42.2	49.00	44.34	28.89	4.48	21.41
ω6/ω3		20.38	8.97	24.22	-	-	-

CG – Grupo Controle. GY – Iogurte Caprino. CGY – Iogurte Caprino com pó de OFI. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Fígado; Fezes. Letras diferentes entre as barras significa diferença estatística entre os grupos O teste estatístico usado foi One Anova way seguido por Tukey com um nível de significância de ($p < 0,05$)

3.7 CONCENTRAÇÃO DE MALONDIALDEÍDO HEPÁTICO

A concentração de malondialdeído hepático, foi observada uma diminuição do GY em comparação aos demais grupos ($p < 0.05$). O grupo CGY não apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo controle ($p > 0.05$) (Figura 7).

Figura 7 – Concentração de malondialdeído hepático de ratos que consumiram iogurte adicionado ou não de cactácea.



CG – Grupo Controle. GY – Iogurte Caprino. CGY – Iogurte Caprino com pó de OFLO teste estatístico usado foi One Anova way seguido por Tukey com um nível de significância. Letras diferentes entre as barras significa diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$).

METABOLÔMICA DO SORO POR ^1H RMN

3.8 METABOLÔMICA DO SORO POR ^1H RMN

Espectros de ^1H NMR e atribuições de metabólitos do soro

A Figura 8 apresenta o espectro representativo de ^1H NMR das amostras de soro de ratos que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI. Os sinais foram atribuídos com base em comparações com os desvios químicos de compostos padrões. Foi possível identificar 33 metabólitos endógenos predominantes atribuídos nos espectros de ^1H NMR das amostras de soro que se destacam como potenciais biomarcadores de vias bioquímicas que contribuíram para a tendência ou não de agrupamento entre os grupos analisados. Os metabólitos encontrados encontram-se mencionados na tabela 4, que expressa os metabólitos encontrados nos três grupos experimentais.

FIGURA 8 – Espectro representativo de 400 MHz ^1H NMR do soro de ratos que consumiram iogurte caprino adicionado ou não de pó de OFI

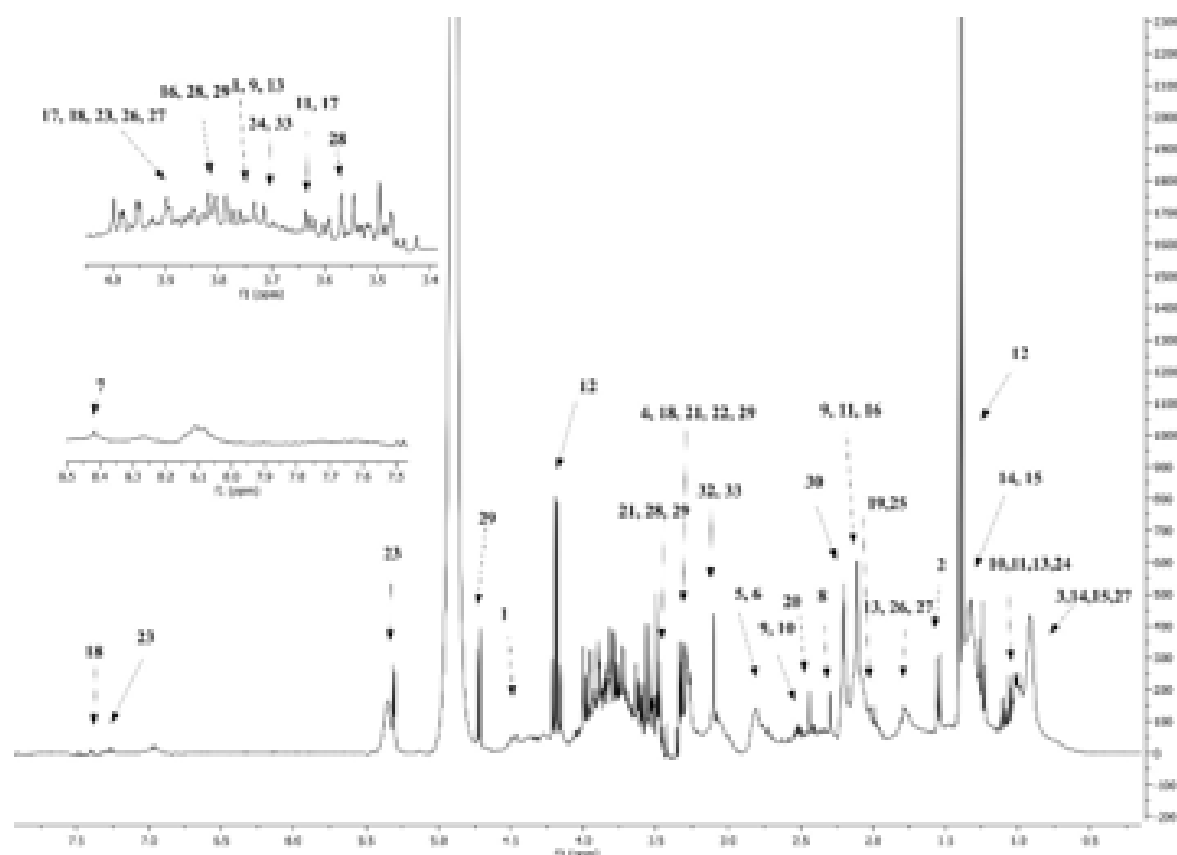


Figura 8 – Espectro representativo de 400 MHz ^1H RMN do soro de animais que consumiram iogurte caprino adicionado ou não da pó de OFI. (1) - Ascorbate (Asc); (2) - Alanine (Ala); (3) - Cholesterol; (4) - Choline; (5) - Citrate (Cit); (6) - Dimethylamine (DMA); (7) - Formate (For); (8) - Glutamate; (9) - Glutamine (Gln); (10) - Isobutyrate (IB); (11) - Isoleucine (Ile); (12) - Lactate (Lac); (13) - Leucine (Leu); (14) - Lipid (mainly LDL); (15) - Lipid (mainly VLDL); (16) - Methionine (Met); (17) - Myo-inositol; (18) - Phenylalanine (Phe); (19) - Proline; (20) - Succinate (Suc); (21) - Taurine; (22) - TMAO; (23) - Tyrosine (Tyr); (24) - Valine (Val); (25) - 2-hydroxyisovalerate (2HIV); (26) - 2-Hydroxybutyrate (2HB); (27) - 2-Oxoisocaproate (2OIC); (28) - α -Glucose (Glc); (29) - β -Glucose; (30) - Acetoacetate; (31) - Creatine; (32) - Creatinine; (33) - Glycine.

Tabela 4. Atribuições de ressonância de metabólitos em espectros de RMN de ^1H .

Metabolite (Abbreviation)	Group	δ , (ppm) (pH=7.4)	Sample (Serum)	Compound
Ascorbate (Asc)	α -CH β -CH half γ -CH half γ -CH	4.50 (d)	4.47 (d)	1
		4.01 (m)	4.00 (m)	
		3.75 (dd)	3.71 (d)	
		3.73 (dd)	3.75	
			(dd)	

Alanine (Ala)	α -CH β -CH	3.78 (q) 1.49 (d)	3.76 (m) 1.52 (d)	2
Cholesterol	-	0.84 (m) 0.91	0.92 (m)	3
Choline	-	3.21 (s)	3.24 (s)	4
Citrate (Cit)	half α -CH half α -CH	2.55 (d) 2.68 (d)	2.70 (sl)	5
Dimethylamine (DMA)	CH	2.72 (s)	2.74 (sl)	6
Formate (For)	CH	8.46 (s)	8.39 (s)	7
Glutamate	γ -H	2.35 (m)	2.38 (m)	8
Glutamine (Gln)	α -CH β -CH γ -CH	3.78 (t) 2.44 (m) 2.14 (m)	3.78 (t) 2.39 (m) 2.08 (m)	9
Isobutyrate (IB)	α -CH $2 \times \beta$ -CH	2.49 (m) 1.06 (d)	2.50 (m) 1.06 (d)	10
Isoleucine (Ile)	α -CH β -CH γ -CH half γ -CH half γ - CH δ -CH	3.67 (d) 2.00 (m) 1.01 (d) 4.2 (m) 1.21 (m) 0.94 (t)	3.66 (d) 2.09 (m) 1.30 (m) 1.04 (d) 0.91 (m)	11
Lactate (Lac)	α -CH β -CH ₃	4.13 (q) 1.34 (d)	4.16 (q) 1.37 (d)	12

Leucine (Leu)	α -CH half β -CH half β -CH γ -CH CH δ -CH δ -CH	3.73 (m) 1.73 (m) 1.70 (m) 1.69 (m) 0.97 (d) 0.96 (d)	3.73 (m) 3.67 (m) 1.76 (m) 1.0 (d) 0.99 (d)	13
Lipid (mainly LDL)	-	0.84 (t) 1.25 (m)	0.92 (m) 1.33 (m)	14
Lipid (mainly VLDL)	-	0.84 (t) 1.29 (m)	0.92 (m) 1.33 (m)	15
Methionine (Met)	α -CH β -CH γ -CH S-CH	3.85 (q) 2.12 (m) 2.22 (m) 2.11 (s)	3.87 (q) 2.18 (m) 2.08 (s)	16
Myo-inositol	-	3.56 (m) 4.08 (brm)	3.57 (m)	17
Phenylalanine (Phe)	α -CH β -CH γ -CH half β -CH half β -CH CH α -CH	7.33 (d) 7.43 (t) 7.37 (t) 3.98 (dd) 3.27 (dd) 3.12 (dd)	7.38 (d) 7.41 (sl) 3.96 (dd) 3.29 (m)	18
Prolone	β -H	2.07 (m)	2.08 (m)	19
Succinate (Suc)	2 $\times$ CH	2.40 (s)	2.42 (s)	20
Taurine	-	3.28 (t) 3.41 (t)	3.26 (m) 3.44 (m)	21
TMAO	-	3.25 (s)	3.29 (s)	22

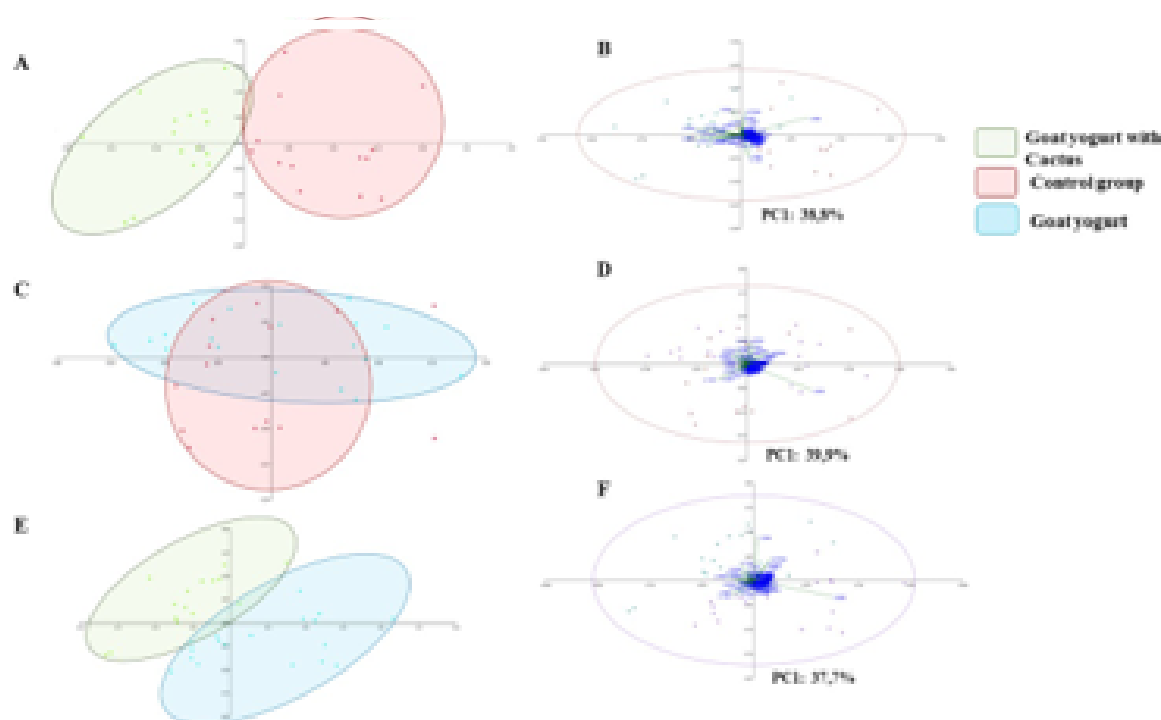
Tyrosine (Tyr) Phenyl moiety:	α -CH β -CH half β -CH half β -CH α -CH	7.19 (d) 6.92 (d) 3.05 (dd) 3.19 (dd) 3.93 (dd).	7.24 (d) 6.95 (d) 3.94 (sl)	23
Valine (Val)	α -CH β -CH γ -CH γ' -CH	3.60 (d) 2.26 (m) 1.05 (d) 0.99 (d)	3.60 (d) 2.27 (m) 1.06 (d) 1.04 (d) 1.00 (d)	24
2-hydroxyisovalerate (2HIV)	α -CH β -CH γ -CH γ' -CH	3.84 (d) 2.00 (m) 0.82 (d) 0.96 (d)	3.82 (d) 2.10 (m) 0.92 (m)	25
2-Hydroxybutyrate (2HB)	α -CH half β -CH half β -CH γ -CH	3.99 (dd) 1.73 (m) 1.64 (m) 0.89 (t)	3.96 (dd) 1.76 (m)	26
2-Oxoisocaproate (2OIC)	α -CH β -CH γ -CH	2.60 (d) 2.08 (m) 0.92 (d)	3.98 (dd) 1.78 (m) 1.63 (m) 0.92 (m)	27
α -Glucose (Glc)	1CH	5.24 (d)	5.29 (d)	28
	2CH	3.54 (dd)	3.58	
	3CH	3.71 (t)	(dd)	
	4CH	3.40 (t)	3.82 (m)	
	5CH	3.82 (m)	3.47 (m)	
	6CH	3.84 (dd)		

β -Glucose	1CH	4.64 (d)	4.71 (d)	29
	2CH	3.24 (dd)	3.26 (m)	
	3CH	3.49 (t)	3.45 (m)	
	4CH	3.38 (t)	3.88	
	5CH	3.45 (m)	(dd)	
	6CH	3.89 (dd)		
Acetoacetate	CH3	2.22 (s)	2.18(s)	30
Creatine	CH3	3.04 (s)	3.05 (s)	31
Creatinine	CH3	3.05 (s)	3.08 (s)	32
Glycine	CH2	3.54 (s)	3.61 (s)	33

Legenda: # s, singlete ; d, duplete ; t, tripleto ; q, quarteto ; m, multiplete; dd, duplete duplo; sl, singlete largo.

O PCA foi realizado em dados do RMN do plasma para obter tendências metabólicas gerais em resposta ao consumo do iogurte caprino adicionado ou não de cactácea e identificar os possíveis discrepantes nos metabólitos plasmáticos. Os metabólitos plasmáticos exibiram uma tendência de separação do grupo CGY quando comparado ao grupo controle e ao GY. Entre esses dois grupos, observou-se que houve uma tendência de agrupamento em deslocamentos químicos similares (Figuras 9- A, C e E). O resultado encontrado mostra que o perfil metabólico é alterado nos ratos do CGY, visto que este grupo teve uma separação clara dos demais, se agrupando em uma região característica de aminoácidos e metabólitos como ácido ascórbico, taurina; isoleucina; acetoacetato; 2-Hydroxybutyrate e outros, enquanto os demais grupos experimentais, se agrupam em regiões dos metabólitos que estão relacionados com o metabolismo lipídico, além de isoleucina, metionina, glutamina, lactato e outros. As variáveis consideradas importantes para a classificação estão apresentadas nos gráficos de Loading plots nas Figuras 9B, 9D e 9F.

Figura 9 – Análises PCA de soro de ratos que consumiram iogurte adicionado ou não de pó de OFI com base em integrais de binning de espectros de ^1H NMR.



(A, C, E) – Score plot; (B, D, F) – Loadings plot.

4 DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, avaliamos os efeitos do consumo de iogurte caprino adicionado de pó de OFI sobre os parâmetros físicos e bioquímicos de ratos jovens. Nossos dados demonstraram que essa combinação induziu aumento da adiposidade, do risco cardiovascular, da glicemia e das gorduras depositadas no fígado de ratos.

No presente estudo, o grupo GY consumiu menos ração nas duas últimas semanas de experimento e apresentaram peso similar ao grupo controle. Ao contrário do grupo CGY, que consumiu quantidades de ração similares ao grupo controle, porém, seu peso corporal foi maior do que os demais grupos nas últimas semanas de experimento. Este fato se deu provavelmente porque a densidade calórica do iogurte caprino adicionado da cactácea é maior (95.40 kcal) do que o iogurte caprino (81.37 Kcal). Além disso, ambos os iogurtes são fontes de ácidos graxos predominantemente saturados (50% in the GY and 65% in the CGY).

Estudos relatam que há uma forte relação entre o consumo de ácidos graxos saturados com o desenvolvimento de doenças coronarianas (Zong et al., 2010; Bi et al., 2019; Ragino et al., 2020; Annevelink et al., 2023). Além disso, na presente pesquisa, observamos um aumento nas gorduras corporais e no índice de adiposidade e risco coronariano no grupo CGY comparado aos demais grupos. Este aumento de gorduras e aumento no risco coronariano pode estar relacionado ao teor de ácido palmítico encontrado em maior quantidade no CGY (31%)

e que é o principal responsável pelo aumento da adiposidade e aumento do risco coronariano (Carta, et al, 2017; Lee et al., 2020; Dominguez-Lopez et al., 2022; Harvey et al., 2010). Adicionalmente, Albergamo e colaboradores (2022) analisaram a composição de ácidos graxos do cladódio, polpa e sementes da OFI, e constataram que no cladódio possui maior quantidade de SFA, especialmente o ácido palmítico. Além disso, eles analisaram o índice de aterogenicidade, que está relacionado a qualidade das gorduras presentes na matriz avaliada, e possíveis associações dessa gordura com o desenvolvimento de doenças cardíacas. Os autores observaram também que o cladódio de OFI possui maior concentração de ácidos graxos mirístico, láurico e palmítico em comparação a semente e polpa, o que aumenta o risco de doenças aterogênicas. Na presente pesquisa, o iogurte caprino adicionado do cladódio de OFI, além de apresentar maior quantidade de ácido graxo saturado, apresenta maior abundância do ácido palmítico e mirístico quando comparado ao GY.

Ao analisar o perfil de ácidos graxos do fígado dos ratos do grupo GY, vemos uma maior deposição de PUFAS, especialmente o ácido aracdônico (AA) (39%) e o docosahexaenóico (DHA) (163%) quando comparamos com o grupo controle. O AA e seus metabólitos podem ser gerados por 2 vias, ou pela cicloxigenase (COX), como as prostaglandinas, que atuam como mediadores pró-inflamatórios, ou pela lipoxigenase (LOX) que atuam como anti-inflamatórios, pois seus metabólitos estão relacionados com a atenuação de processos inflamatórios (Bian et al., 2016). Um equilíbrio entre esses dois mediadores é um dos principais fatores para a regulação de processos inflamatórios (Gundala et al., 2019) e estresse oxidativo (Silva et al., 2015; Dias et al., 2022).

No entanto, essa maior deposição de PUFA's no fígado dos ratos que receberam o iogurte caprino foi revertida quando a cactácea foi adicionada ao mesmo. Os dados demonstram que houve uma maior deposição de SFA no fígado do CGY especialmente dos ácidos palmítico (62.4%) e esteárico (16.9%) quando comparado ao grupo GY, que pode ser justificada pela composição lipídica do cacto. O estudo realizado por Maniaco e colaboradores (2023) avaliou o efeito da adição de cladódio de OFI como fonte de bioativos em produtos lácteos, elas observaram que os queijos adicionado de OFI apresentaram maiores teores de alguns SFA, especialmente dos ácidos láurico, mirístico e palmítico, assim como no nosso estudo. Estudos indicam que esses ácidos graxos causam liberação de citocinas inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6 (Haversen et al., 2009; Nicholas et al., 2017; Dias et al., 2022), causando aumento dos processos oxidativos, justificando assim o aumento do marcador de estresse MDA hepático nos ratos do grupo CGY em relação ao GY e se igualando ao grupo controle.

No que diz respeito à função hepática, observamos um aumento no TC e TG hepático e na enzima marcadora de lesão hepática transaminase oxalacética, nos grupos GY e CGY. Isso pode ser justificado pelos teores de gorduras presentes nos iogurtes, que apesar de ter sido em torno de 3%, foi suficiente para aumentar a quantidade de gordura total no fígado. Resultado similar foi verificado por Amr e colaboradores (2023), que avaliaram o impacto de diferentes tipos de leite na saúde de ratos, e observaram que o leite caprino elevou os níveis de transaminase oxalacética. Além disso, foi verificado em análise histológica lesões hepáticas consideráveis nos ratos. Essa alteração na função hepática se dá pelo fato de o leite caprino ter em sua composição altos níveis de triglicérides de cadeia média e SFA e esses AG são responsáveis pelo aumento do colesterol total e triglicérides (Nayak et al., 2020), como observado na presente pesquisa.

O consumo crônico de alimentos fontes de gordura, independentemente do tipo ou grau de saturação, pode levar a esse acúmulo de gordura hepática (Rafiei et al., 2019). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Melo e colaboradores (2021), que analisaram o efeito de uma dieta rica em gordura saturada e uma bebida rica em frutose, e obtiveram um aumento na transaminase oxalacética, como o encontrado na presente pesquisa. Bem como a pesquisa realizada por Lozano e colaboradores (2016) que avaliaram as complicações hepáticas em animais causadas por uma dieta rica em gordura e frutose, e obtiveram resultados semelhantes aos da nossa pesquisa, com um aumento de triglicérides hepáticos.

Além disso, observamos um aumento significativo na glicose plasmática dos animais do grupo CGY comparado aos demais grupos. Esses achados podem ser justificados pelo próprio processo de fermentação láctica, já que, durante o processo de fermentação do iogurte, os microrganismos presentes, quebram a lactose, liberando glicose e outros produtos para o iogurte (Barros et al., 2019; Bezerril et al., 2021). Dantas e colaboradores (2020) analisaram o efeito da adição da farinha da cactácea xique-xique (*Pilosocereus gounellei*), também no iogurte caprino. Os autores observaram que durante o armazenamento, houve um impacto direto no perfil de açúcares, apresentando uma redução na quantidade de lactose, e um aumento de glicose.

Para obter um resultado ainda mais fidedigno, analisamos na presente pesquisa, a metabolômica baseada em RMN de ¹H e análise multivariada, seguida de PCA, para estudar o perfil metabólico do soro de ratos e esclarecer os efeitos do consumo dessa matriz. A metabolômica é uma ciência ôhmica que vem sendo cada vez mais usada, pois através dela é possível identificar metabólitos e, por meio deles, identificar possíveis biomarcadores ou vias

bioquímicas específicas de doenças ou processos no plasma, tecidos e outros materiais biológicos (Cai et al., 2017; Wesley et al., 2019). Em nosso trabalho, um total de 33 metabólitos foram identificados, dentre eles, alguns especificamente são responsáveis pela tendência de separação entre os grupos. No grupo dos ratos que consumiram o iogurte caprino adicionado de pó de OFI, um dos metabólitos responsáveis pela tendência de separação dos demais grupos, é o ácido ascórbico. A presença desse metabólito nesse grupo pode explicar a não alteração no perfil lipídico dos animais, no qual nem o colesterol total, nem o HDL, nem os triglicerídeos foram alterados em comparação ao grupo controle. Porém o LDL estava reduzido tanto no GY como no CGY.

A literatura relata que existe associação com a presença de ácido ascórbico e efeitos benéficos no metabolismo lipídico. O ácido ascórbico inibe a lipogênese pela via da proteína quinase α ativada por AMP (AMPK- α) (Hwang et al., 2022). A AMPK- α é uma proteína que atua como sensor metabólico da regulação do metabolismo lipídico. A baixa concentração ou ausência dessa proteína, aumenta a síntese lipídica e os níveis séricos de moléculas lipídicas, como TG e LDL (Garcia et al., 2019).

Além disso, Wang e colaboradores (2020), avaliaram o efeito do ácido ascórbico sobre a expressão do receptor de LDL, e foi visto que o ácido ascórbico atuou inibindo a expressão de PCSK9 que é uma protease circulante que se liga ao LDLR levando-o a degradação (Tavori, Giunzioni e Fazio, 2015), além de ter aumentado os níveis da proteína LDLR, que é um receptor de LDL que tem a função de captar o LDL circulante o que implica na redução dos níveis sanguíneos dessa partícula. Não foi possível identificar a presença desse mesmo metabólito no grupo GY, porém ele pode estar presente em baixas quantidades mesmo sem tê-lo identificado, visto que os valores de LDL no GY foram similares ao CGY.

Além disso, observamos uma tendência de separação a partir das cetonas 2-Hydroxybutyrate (2HB) e acetoacetato no grupo GY quando comparado ao grupo CGY e CG. Esses dois metabólitos são cetonas, e atuam como moléculas sinalizadoras para diversos processos (Crawford e Puchalska 2017; Wijaya et al., 2021). O 2BH é o principal representante dos corpos cetônicos e é o mais abundante corpo cetônico circulante (Dabek et al., 2020). Além de ser usado para produção de energia, esse metabólito apresenta outras funções, como a regulação de diversos processos epigenéticos, como regulação do estresse oxidativo, inflamação, fibrose, processos tumorais, entre outros (Fang et al., 2021; He et al., 2023). O 2BH, assim como as demais cetonas, são sintetizadas na matriz mitocondrial do fígado, a partir da metabolização dos ácidos graxos. A partir do Acetil CoA, produto inicial da metabolização dos ácidos graxos, há a formação de diversos produtos, em sequência, 3-hidroxi-3-

metilglutaril-CoA síntese 2 (HMGCS2), 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA), acetoacetato (AcAc), HMG-CoA ligase (HMGCL), que é convertido a 2HB (HE et al., 2023). Há evidências de que o 2HB ativa o GPR109A, um receptor acoplado à proteína G, que se liga à AG de cadeia curta. A ativação do GPR109A pelo 2HB leva a redução da lipólise nos adipócitos e promove o uso da gordura em outras vias (Taggart et al., 2005; He et al., 2023). Além disso, a ativação do GPR109A pelo 2HB, pode prevenir processos inflamatórios, oxidativos, e redução de riscos cardiovasculares, como aterosclerose (Zang et al., 2021). Em nosso trabalho, os ratos do grupo GY apresentaram menor índice de risco coronariano, quando comparado ao grupo CGY, que não apresentou as cetonas supracitadas no soro plasmático.

Essas cetonas também podem atuar reduzindo a grelina, que é responsável pelo aumento do apetite, e aumentar a excreção de leptina, hormônio responsável pela inibição do apetite (Sumithran et al., 2013; Finucane et al., 2023). Wu e colaboradores (2020) demonstraram que o 2HB além de melhorar parâmetros relacionados ao sistema cardiovascular, melhorou também o peso corporal de ratos diabéticos. Assim como no presente trabalho, em que os ratos GY tiveram a presença dessas cetonas no soro, apresentaram também uma redução no consumo de ração nas últimas semanas do experimento, quando comparado aos demais grupos experimentais.

Além dos benefícios já citados, estudos apontam que as cetonas que encontramos no grupo GY atuam diretamente regulando a inflamação e o estresse oxidativo (Hwang et al., 2022). Ele ativa fatores de transcrição sensíveis ao estresse oxidativo, principalmente o fator NRF2, direcionando um sistema de defesa antioxidante contra os radicais livres (Morales et al., 2022). Ao analisarmos o estresse oxidativo hepático por meio da quantificação do MDA observamos que este composto apresenta um dos produtos finais da oxidação lipídica, tornando-se um marcador oxidativo. Esse estresse oxidativo hepático foi reduzido nos animais do grupo GY, que apresentaram a presença das cetonas supracitadas.

Sendo assim, foi possível verificar que o consumo do iogurte caprino sozinho reduz a peroxidação lipídica e aumenta a deposição de PUFA hepática sem alterar os parâmetros físicos e bioquímicos. Quando esse iogurte é adicionado de cladódio de OFI, podemos observar um aumento na deposição de gorduras corporais, do risco coronariano e de adiposidade e de glicose plasmática. Porém, tanto o GY como o CGY induziram alterações no fígado como aumento do percentual de gordura, TGO, colesterol total e triglicerídeos hepáticos.

CONCLUSÃO

Desta forma, nossa hipótese de que adição do OFI ao iogurte caprino poderia potencializar a ação dos compostos bioativos presente neste alimento, foi negada. E apesar do consumo do GY ter reduzido a peroxidação lipídica e ter aumentado os teores de PUFA no fígado, tanto o iogurte caprino como o iogurte caprino adicionado de OFI induziram danos hepáticos nos ratos de acordo com os parâmetros investigados.

REFERÊNCIAS

- AHMED, G. K. et al. Antidepressant and anti-suicidal effects of ketamine in treatment-resistant depression associated with psychiatric and personality comorbidities: A double-blind randomized trial. **Journal of affective disorders**, 2023.
- AHMED, Ahmed S. et al. Identification of potent antioxidant bioactive peptides from goat milk proteins. **Food Research International**, v. 74, p. 80-88, 2015.
- ALVES, A. S.; CONSTANT, P. B. L.; TELES, A. R. S. Avaliação físico-química e sensorial de pão de forma elaborado com farinha de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e141011119433-e141011119433, 2021.
- ALVES, M. A.; SOUZA, A. C. M. D. GAMARRA-ROJAS, G.; GUERRA, N. B. Fruto de palma [*Opuntia ficus-indica* (L) Miller, Cactaceae]: morfologia, composição química, fisiologia, índices de colheita e fisiologia pós-colheita. 2008.
- ARAÚJO, F. F. et al. Underutilized plants of the Cactaceae family: Nutritional aspects and technological applications. **Food chemistry**, v. 362, p. 130196, 2021.
- ASSIS, Paloma Oliveira Antonino et al. Intestinal anti-inflammatory activity of goat milk and goat yoghurt in the acetic acid model of rat colitis. **International Dairy Journal**, v. 56, p. 45-54, 2016.
- BARBOSA, D. M.; DOS SANTOS, G. M. C.; GOMES, D. L.; DA COSTA SANTOS, É. M.; DA SILVA, R. R. V.; DE MEDEIROS, P. M. O rótulo 'planta alimentícia não convencional' influencia a aceitação dos alimentos pelos consumidores em potencial? Uma primeira abordagem. **Heliyon**, v. 7, n. 4, pág. 06731, 2021.
- BARROS, Raphael Ferreira et al. Lactose hydrolysis and organic acids production in yogurt prepared with different onset temperatures of enzymatic action and fermentation. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p. e43549, 2019.
- BEZERRIL, F. F.; PIMENTEL, T. C.; SANT'ANA, A. M. S.; SOUZA, M. F. V.; MEDEIROS, L. L.; GALVÃO, M.; MADRUGA, M. S.; QUIEROGA, R. C. R. E.; MAGNANI, M. Lactocaseibacillus casei 01 improves the sensory characteristics in goat milk yogurt added with xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) jam through changes in volatiles concentration. **Food Science and Technology – LWT**. p. 112598, 2021.
- BIAN, Qiaoxia et al. Arachidonic acid metabolomic study of BPH in rats and the interventional effects of Zishen pill, a traditional Chinese medicine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 128, p. 149-157, 2016.

Bi X, Yeo PL, Loo YT, Henry CJ. Associations between circulating fatty acid levels and metabolic risk factors. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*. 2019 Mar [1-15:65-9](#).

BIDÖ, Rita de Cássia de Araújo et al. Mix of almond baru (*Dipteryx alata* Vog.) and goat whey modulated intestinal microbiota, improved memory and induced anxiolytic like behavior in aged rats. *Journal of Psychiatric Research*, v. 164, p. 98-117, 2023.

BUTERA, Daniela et al. Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 50, n. 23, p. 6895-6901, 2002.

Brasil, 2018. Portaria interministerial nº 284, de 30 de maio de 2018. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/29306868/dol-2018-07-10-portaria-interministerial-n-284-de-30-de-maio-de-2018-29306860 Acesso em 28 de fevereiro de 2023.

CAI, Wei et al. Dysfunction of the neurovascular unit in ischemic stroke and neurodegenerative diseases: an aging effect. *Ageing research reviews*, v. 34, p. 77-87, 2017.

Carta G, Murru E, Banni S, Manca C. Palmitic acid: physiological role, metabolism and nutritional implications. *Frontiers in physiology*. 2017 Nov [8:8:902](#).

COSTA, Marion P. et al. Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. *Journal of dairy science*, v. 100, n. 1, p. 157-168, 2017.

COSTA, Lyvia Daim et al. *Pachira aquatica* (Malvaceae): an unconventional food plant with food, technological, and nutritional potential to be explored. *Food Research International*, p. 112354, 2022.

CRAWFORD, Peter. Multi-dimensional roles of ketone bodies in fuel metabolism, signaling, and therapeutics. *Biophysical Journal*, v. 116, n. 3, p. 2a, 2019.

DĄBEK, Arkadiusz et al. Modulation of cellular biochemistry, epigenetics and metabolomics by ketone bodies. Implications of the ketogenic diet in the physiology of the organism and pathological states. *Nutrients*, v. 12, n. 3, p. 788, 2020.

DANTAS, D. L. S. et al. *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) flour: Improving the nutritional, bioactive, and technological properties of probiotic goat-milk yogurt. *LWT*, v. 158, p. 113165, 2022.

DELGADILLO-PUGA, Claudia et al. Goat's milk intake prevents obesity, hepatic steatosis and insulin resistance in mice fed a high-fat diet by reducing inflammatory markers and increasing energy expenditure and mitochondrial content in skeletal muscle. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 15, p. 5530, 2020.

DIAS, Bruna Vidal et al. EPA/DHA and linseed oil have different effects on liver and adipose tissue in rats fed with a high-fat diet. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 159, p. 106622, 2022.

DU, Xiaojing et al. Characterization of structure, physicochemical properties, and hypoglycemic activity of goat milk whey protein hydrolysate processed with different proteases. **LWT**, v. 159, p. 113257, 2022.

EL-MOSTAFA, Karym et al. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. **Molecules**, v. 19, n. 9, p. 14879-14901, 2014.

ESTERBAUER, Hermann; CHEESEMAN, Kevin H. [42] Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In: *Methods in enzymology*. Academic Press, 1990. p. 407-421.

FABERSANI, E.; GRANDE, M. V.; ARAÓZ, M. V. C.; ZANNIER, M. L.; SÁNCHEZ, S. S.; GRAU, A.; HANORÉ, S. M. Metabolic effects of goat milk yogurt supplemented with yacon flour in rats on high-fat diet. **Journal of Functional Foods**. v. 49, p. 447-457, 2018.

FAN, Rongbo et al. Identification markers of goat milk adulterated with bovine milk based on proteomics and metabolomics. **Food Chemistry: X**, p. 100601, 2023.

FANG, Yudong et al. The ketone body β -hydroxybutyrate mitigates the senescence response of glomerular podocytes to diabetic insults. **Kidney International**, v. 100, n. 5, p. 1037-1053, 2021.

FARAG, Mohamed A. et al. Assessment of sensory metabolites distribution in 3 cactus *Opuntia ficus-indica* fruit cultivars using UV fingerprinting and GC/MS profiling techniques. **Lwt**, v. 80, p. 145-154, 2017.

FENG, C.; WANG, B.; ZHAO, A.; WEI, L.; SHAO, Y.; WANG, Y.; ZHANG, F. Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube Pulp. **Food Chemistry**. v. 277, p. 238-245, 2019.

FINUCANE, Francis Martin et al. Weight loss is proportional to increases in fasting serum beta-hydroxybutyrate concentrations in adults with severe obesity undergoing a meal replacement programme. **Human Nutrition & Metabolism**, v. 32, p. 200192, 2023.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids. **Journal of Biological Chemistry**, v.226, p.497-509, 1957.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma Without Use of the Preparative Ultracentrifug. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, 1972.

GARCIA, Daniel et al. Genetic liver-specific AMPK activation protects against diet-induced obesity and NAFLD. **Cell reports**, v. 26, n. 1, p. 192-208. e6, 2019.

GUO, M. R. Goat milk chemistry and its product manufacturing technology. S. Jiang (Ed.). **Goat Milk Products and Their Manufacturing Technology**. Nova Science Publishers, Inc (2020), pp. 152-153.

GUNDALA, Naveen KV; NAIDU, Vegi GM; DAS, Undurti N. Amelioration of streptozotocin-induced type 2 diabetes mellitus in Wistar rats by arachidonic acid. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 496, n. 1, p. 105-113, 2018.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small ruminant research**, v. 51, n. 2, p. 155-163, 2004.

HAMMAM, Ahmed RA et al. Goat Milk: Compositional, technological, nutritional, and therapeutic aspects. 2021.

HAN, Binsong et al. Phosphoproteomics reveals that camel and goat milk improve glucose homeostasis in HDF/STZ-induced diabetic rats through activation of hepatic AMPK and GSK3-GYS axis. **Food Research International**, v. 157, p. 111254, 2022.

HARVEY, Kevin A. et al. Oleic acid inhibits stearic acid-induced inhibition of cell growth and pro-inflammatory responses in human aortic endothelial cells. **Journal of lipid research**, v. 51, n. 12, p. 3470-3480, 2010.

HE, Yanqiu et al. β -Hydroxybutyrate as an epigenetic modifier: Underlying mechanisms and implications. **Heliyon**, 2023.

Håversen L, Danielsson KN, Fogelstrand L, Wiklund O. Induction of proinflammatory cytokines by long-chain saturated fatty acids in human macrophages. **Atherosclerosis**. 2009 Feb 1;202(2):382-93.

HÉLIÈS-TOUSSAINT, Cécile et al. Opuntia cladode powders inhibit adipogenesis in 3 T3-F442A adipocytes and a high-fat-diet rat model by modifying metabolic parameters and favouring fecal fat excretion. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 20, p. 1-12, 2020.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, Blanca; RAMOS, Mercedes; GÓMEZ-RUIZ, José Ángel. Bioactive components of ovine and caprine cheese whey. **Small Ruminant Research**, v. 101, n. 1-3, p. 196-204, 2011.

HU, Sumei et al. Dietary fat, but not protein or carbohydrate, regulates energy intake and causes adiposity in mice. **Cell metabolism**, v. 28, n. 3, p. 415-431. e4, 2018.

HWANG, Chi Yeon et al. Molecular mechanisms for ketone body metabolism, signaling functions, and therapeutic potential in cancer. **Nutrients**, v. 14, n. 22, p. 4932, 2022.

KALYAN, Sunny et al. Evaluation of goat milk fat and goat milk casein fraction for anti-hypercholesterolaemic and antioxidative properties in hypercholesterolaemic rats. **International Dairy Journal**, v. 84, p. 23-27, 2018.

KUTI, Joseph O. Antioxidant compounds from four *Opuntia cactus* pear fruit varieties. **Food chemistry**, v. 85, n. 4, p. 527-533, 2004.

LEAL, M. L.; ALVES, R. P.; HANAZAKI, N. Knowledge, use, and disuse of unconventional food plants. **Journal of ethnobiology and ethnomedicine**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2018.

LEE, Yujin et al. Serial biomarkers of de novo lipogenesis fatty acids and incident heart failure in older adults: the cardiovascular health study. **Journal of the American Heart Association**, v. 9, n. 4, p. e014119, 2020.

DOMÍNGUEZ-LÓPEZ, Inés et al. Changes in plasma total saturated fatty acids and palmitic acid are related to pro-inflammatory molecule IL-6 concentrations after nutritional intervention for one year. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 150, p. 113028, 2022.

LOZANO, Iona et al. High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. **Nutrition & metabolism**, v. 13, p. 1-13, 2016.

MA, Lingyan et al. Preventive and therapeutic spermidine treatment attenuates acute colitis in mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 6, p. 1864-1876, 2021.

MA, Yue et al. Physicochemical stability and in vitro digestibility of goat milk affected by freeze-thaw cycles. **Food Chemistry**, v. 404, p. 134646, 2023.

MACHADO, A. D. G. (2019). Desenvolvimento de farinha de xique-xique (*Pilosocereus gounellei*): caracterização nutricional, propriedades reológicas e sua utilização na elaboração de cookies. 134p. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

MELO, Bruno Pereira et al. Thirty days of combined consumption of a high-fat diet and fructose-rich beverages promotes insulin resistance and modulates inflammatory response and histomorphometry parameters of liver, pancreas, and adipose tissue in Wistar rats. **Nutrition**, v. 91, p. 111403, 2021.

MÉNDEZ, Lorena Pérez et al. Physicochemical characterization of cactus pads from *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica*. **Food chemistry**, v. 188, p. 393-398, 2015.

MILIÃO, Gustavo Leite et al. Unconventional food plants: Nutritional aspects and perspectives for industrial applications. **Future Foods**, v. 5, p. 100124, 2022.

Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 216 de 22 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2004. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RESOLU%25CC%2587%25CC%2583O-RDC>> . Acesso em: 18 de março de 2023

MORAIS, J. L. et al. Autochthonous adjunct culture of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 improved the techno-functional, physicochemical, and sensory properties of goat milk Greek-style yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 3, p. 1889-1899, 2022.

MORAIS, M. G. et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of fractions from ripe fruits of *Solanum lycocarpum* St. Hil (Solanaceae) and putative identification of bioactive compounds by GC-MS and LC-DAD-MS. **Food Research International**, v. 156, p. 111145, 2022.

MORALES, Pedro, Rojas; PEDRAZA-CHAVERRI, José; TAPIA, Edilia. Ketone bodies, stress response, and redox homeostasis. **Redox Biology**, v. 29, p. 101395, 2020.

MOURA, Renally de Lima et al. Cactus flour (*Opuntia ficus-indica*) reduces brain lipid peroxidation and anxious-like behavior in old Wistar rats. **Physiology & Behavior**, v. 272, p. 114360, 2023.

NICHOLAS, Dequina A. et al. Palmitic acid is a toll-like receptor 4 ligand that induces human dendritic cell secretion of IL-1 β . **PloS one**, v. 12, n. 5, p. e0176793, 2017.

NOVELLI, E. L. B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory animals**, v. 41, n. 1, p. 111-119, 2007.

ONTARIO, M. L., et al. Potential prevention and treatment of neurodegenerative disorders by olive polyphenols and hydrox. **Mechanisms of Ageing and Development**, p. 111637, 2022.

PAN, et al. Pomegranate juice powder as sugar replacer enhanced quality and function of set yogurts: Structure, rheological property, antioxidant activity and in vitro bioaccessibility. **LWT**, v. 115, p. 108479, 2019.

PARK, Y. W. et al. Impact of different gums on textural and microbial properties of goat milk yogurts during refrigerated storage. **Foods**, v. 8, n. 5, p. 169, 2019.

RAFIEL, Hossein; OMIDIAN, Kosar; BANDY, Brian. Dietary polyphenols protect against oleic acid-induced steatosis in an in vitro model of NAFLD by modulating lipid metabolism and improving mitochondrial function. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 541, 2019.

RAGINO, Yuliya I. et al. Changes in the blood fatty-acid profile associated with oxidative-antioxidant disturbances in coronary atherosclerosis. **Journal of Medical Biochemistry**, v. 39, n. 1, p. 46, 2020.

RODRIGUES, Raphaela et al. Lactobacillus rhamnosus EM1107 in goat milk matrix modulates intestinal inflammation involving NF- κ B p65 and SOCs-1 in an acid-induced colitis model. **Journal of Functional Foods**, v. 50, p. 78-92, 2018.

SANTIS, D., et al. Improvement of the sensory characteristics of goat milk yogurt. **Journal of food science**, v. 84, n. 8, p. 2289-2296, 2019.

SANTOS, Widson Michael et al. Goat milk as a natural source of bioactive compounds and strategies to enhance the amount of these beneficial components. **International Dairy Journal**, v. 137, p. 105515, 2023.

SANTOS, H. O. et al. Antioxidant activity and sensory evaluation of crispy salted snacks fortified with bamboo shoot rich in bioactive compounds. **Applied Food Research**, v. 1, n. 2, p. 100018, 2021.

SHARMA, Prema; BHANDARI, Chema; AGNIHOTRI, Navneet. Dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids differentially modulate the adiponectin and leptin-mediated major signaling pathways in visceral and subcutaneous white adipose tissue in high fat diet induced obesity in Wistar rats. **Nutrition Research**, v. 110, p. 74-86, 2023.

SILVA, Gabriel et al. Healthy effect of different proportions of marine ω -3 PUFAs EPA and DHA supplementation in Wistar rats: Lipidomic biomarkers of oxidative stress and inflammation. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 11, p. 1385-1392, 2015.

SIROTKIN, Alexander V. Can nopal cactus (*Opuntia ficus-indica* L. Miller) treat [obesity](#)? **Obesity Medicine**, v. 30, p. 100390, 2022.

SMIDA, Amani et al. Immunoprotective activity and antioxidant properties of cactus (*Opuntia ficus indica*) extract against chlorpyrifos toxicity in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 88, p. 844-851, 2017.

SUMITHRAN, P. et al. Ketosis and appetite-mediating nutrients and hormones after weight loss. **European journal of clinical nutrition**, v. 67, n. 7, p. 759-764, 2013.

TAGGART [AK](#), (D)-beta-Hydroxybutyrate inhibits adipocyte lipolysis via the nicotinic acid receptor PUMA-G. *J Biol Chem*, v. 280, p. 26649-26652, 2005.

TAVORI, Hagai; GIUNZONI, Ilaria; FAZIO, Sergio. PCSK9 inhibition to reduce cardiovascular disease risk: recent findings from the biology of PCSK9. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*, v. 22, n. 2, p. 126, 2015.

VIEIRA, A. E., et al. Mucilages of cacti from Brazilian biodiversity: Extraction, physicochemical and technological properties. *Food Chemistry*, v. 346, p. 128892, 2021.

WANG, Dandan et al. Ascorbic acid enhances low-density lipoprotein receptor expression by suppressing proprotein convertase subtilisin/kexin 9 expression. *Journal of Biological Chemistry*, v. 295, n. 47, p. 15870-15882, 2020.

WANG, Dandan et al. Ascorbic acid inhibits transcriptional activities of LXRs to ameliorate lipid metabolism disorder. *Journal of Functional Foods*, v. 88, p. 104901, 2022.

WESLEY, Umadevi V. et al. Local and systemic metabolic alterations in brain, plasma, and liver of rats in response to aging and ischemic stroke, as detected by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. *Neurochemistry International*, v. 127, p. 113-124, 2019.

WEI, Liu et al. Goat Milk Consumption Ameliorates Abnormalities in Glucose Metabolism and Enhances Hepatic and Skeletal Muscle AMP-Activated Protein Kinase Activation in Rats Fed with High-Fat Diets. *Molecular nutrition & food research*, v. 63, n. 24, p. 1900703, 2019.

WIJAYA, Hendy et al. The effect of supplementation of Isomaltooligosaccharide and emulsified medium-chain triglycerides on blood glucose, β -hydroxybutyrate and calorie intake in male Wistar rats. *Clinical Nutrition Open Science*, v. 37, p. 35-46, 2021.

WU, Xingliang et al. β -hydroxybutyrate antagonizes aortic endothelial injury by promoting generation of VEGF in diabetic rats. *Tissue and Cell*, v. 64, p. 101345, 2020.

ZHANG, Huijuan et al. Plant bioactive compounds alleviate photoinduced retinal damage and asthenopia: mechanisms, synergies, and bioavailability. *Nutrition Research*, 2023.

ZHANG, Shu-jie et al. Ketone body 3-hydroxybutyrate ameliorates atherosclerosis via receptor Gpr109a-mediated calcium influx. *Advanced Science*, v. 8, n. 9, p. 2003410, 2021.

Zong G, Li Y, Wanders AJ, Alssema M, Zock PL, Willett WC, Hu FB, Sun Q. Intake of individual saturated fatty acids and risk of coronary heart disease in US men and women: two prospective longitudinal cohort studies. *bmj*. 2016 Nov 23;355.

ANEXO 1



Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural
Comissão de Ética no Uso de Animais
Av. Santa Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,
CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3045



A Sra.: Juliana Késsia Barbosa Soares

Protocolo CEUA/CSTR N° 62/2021

CERTIDÃO

Certificamos para os devidos fins que o projeto intitulado *“Consumo do iogurte caprino adicionado de farinha do cladódio de mandacaru (cereus jamacaru dc.): Efeitos sobre os parâmetros comportamentais, físicos e na saúde intestinal de ratos”*, coordenado pelo (a) pesquisador (a) acima citado (a), obteve parecer consubstanciado pelo regulamento interno deste comitê, sendo **APROVADO** em caráter de *Ad Referendum*, estando a luz das normas e regulamentos vigentes no país e atendidas as pesquisas para especificações científicas.

Patos, 28 de março de 2022

Prof. Dr. Valdir Moraes de Almeida

UFCG / Campus Patos

SIAPE 1406222

Prof. Valdir Moraes De Almeida
Coordenador do CEP/CEUA/UFCG/CSTR

