

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**NATURAIS E BIOTECNOLOGIA**  
**MESTRADO**

**RENALLY DE LIMA MOURA**

**EFEITO DO CONSUMO DA FARINHA DE PALMA**  
**(*Opuntia ficus-indica*) SOBRE O COMPORTAMENTO DE**  
**ANSIEDADE EM RATOS IDOSOS**

**Cuité – PB**

**2023**

**RENALLY DE LIMA MOURA**

**EFEITO DO CONSUMO DA FARINHA DE PALMA  
(*Opuntia ficus-indica*) SOBRE O COMPORTAMENTO DE  
ANSIEDADE EM RATOS IDOSOS**

Cuité – PB

2023

RENALLY DE LIMA MOURA

EFEITO DO CONSUMO DA FARINHA DE PALMA (*Opuntia  
ficus-indica*) SOBRE O COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE  
EM RATOS IDOSOS

Dissertação apresentada como requisito obrigatório à obtenção do grau de Mestre em Ciências Naturais e Biotecnologia do Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia com área de concentração em Biotecnologia Industrial.

Orientadora: Dra. Juliana Késsia Barbosa Soares Moreira

Cuité – PB

2023

M929e Moura, Renally de Lima.

Efeito do consumo da farinha de palma (*Opuntia fícus-indica*) sobre o comportamento de ansiedade em ratos idosos. / Renally de Lima Moura. Cuité, 2023.

65 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais e Biotecnologia) Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2023. "Orientação: Profa. Dra. Juliana Késsia Barbosa Soares Moreira".

Referências.

1. Palma. 2. Ansiedade. 3. Alimentação equilibrada - palma. 4. Plantas alimentícias não convencionais. 5. *Opuntia fícus-indica*. 6. Figueira da Índia. 7. Envelhecimento - alimentação - saúde. 8. Farinha de palma - consumo. I. Moreira, Juliana Késsia Barbosa Soares. II. Título.

CDU 633.2(043)

EFEITO DO CONSUMO DA FARINHA DE PALMA (*Opuntia ficus-indica*) SOBRE  
O COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE EM RATOS IDOSOS

**RENALLY DE LIMA MOURA**

Dissertação Aprovada em 28/02/2023 pela Banca Examinadora constituída dos  
seguintes membros:



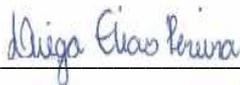
---

**Dr.<sup>a</sup>. Juliana Késsia Barbosa Soares Moreira**  
**Orientadora**  
**UAS/CES/UFCG**



---

**Dr.<sup>a</sup>. Vanessa Bordin Viera**  
**Examinadora interna**  
**UAS/CES/UFCG**



---

**Dr. Diego Elias Pereira**  
**Examinador Externo**  
**UFPB**

Cuité – PB

2023

**Aos meus pais, Antonia dos Santos Lima e Vital do Nascimento Moura.**

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, por me conceder a vida, por nunca me deixar desistir, por me dar forças para enfrentar essa caminhada. Obrigada por me sustentar em meio a tantos obstáculos enfrentados, por me estender a mão e me conduzir sempre pelo melhor caminho sem me deixar fraquejar.

Aos meus pais, **Antonia Lima** e **Vital Moura**, por nunca medirem esforços para realização dos meus sonhos, por todo apoio, amor e compreensão. Vocês foram essenciais nessa jornada. Eu amo vocês incondicionalmente!

Ao meu esposo, **José Carlos**, que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida, sejam eles bons ou ruins. Obrigada por toda ajuda, paciência, por me auxiliar nessa pesquisa, por vibrar comigo cada conquista. Eu te amo demais e sou extremamente grata por tudo.

Ao meu irmão, **Hygor Ramon**, por todo amor, companheirismo, por sempre torcer por mim e por cada oração que intercedeu a Deus desde quando eu fui para a seleção. Muito obrigada por tudo. Eu te amo!

Ao meu padrinho, **José Ferreira** (*in memória*), sei o quanto o senhor sonhava com esse momento. Convivemos pouco fisicamente, mas foi o suficiente para nunca te esquecer. Obrigada por tudo que fizeste por mim, principalmente por me incentivar a estudar. Eu te amo demais e sinto muito a sua falta.

A minha orientadora, **Juliana Késsia**, por todo apoio, por estar comigo desde o segundo período da graduação, sempre muito paciente, me ajudando a realizar meus sonhos e me mostrando o quanto eu sou capaz. Sou eternamente grata a senhora por toda dedicação e amizade. Obrigada por tudo. A senhora é muito especial na minha vida.

A minha família, em especial a minha tia **Maria das Dores**, por todas orações, por me ajudar nos piores momentos, por fortalecer minha fé e me mostrar sempre o melhor caminho a ser trilhado. Obrigada por tudo tia. Eu te amo!

A minha amiga, **Larissa Dutra** por toda ajuda no decorrer da pesquisa, pelos ensinamentos, por todo apoio e incentivo. Obrigada por sempre me motivar, por nunca me deixar desistir e por sempre acreditar em mim. Você é muito especial!

A **Maria da Vitória**, por toda ajuda no laboratório, por abraçar minha pesquisa e sempre dar o seu melhor. Muito obrigada por tudo, sua ajuda foi fundamental para realização desse trabalho.

A **Jaciel Galdino**, por toda ajuda, desde a produção da ração, até as lamentações que você ouvia no laboratório (rsrs). Obrigada por todo apoio e por me ajudar a solucionar os problemas que aconteceram ao longo dessa caminhada.

A todos os meus **amigos**, em especial a **Jéssica, Amanda e Dayane** que estão comigo desde a graduação. Eu amo vocês!

A minha banca, **Vanessa Viera e Diego Elias**, por ter aceitado o convite de participar desse momento tão especial na minha vida, por estarem comigo desde a graduação. O meu muito obrigada por todas as contribuições, vocês são muito especiais!

A todos os professores e colegas do **PPGCNBiotec** da Universidade Federal de Campina Grande, por todo o conhecimento repassado e por todo apoio. Meu muito obrigada!

A **Capes**, pelo apoio financeiro, sem este apoio não seria possível a realização dessa pesquisa.

Ao professor **Roberto Germano** por todo apoio, o meu muito obrigada!

Ao professor **Marcelo Sobral** pelo financiamento destinado a compra dos matérias da ração. Muito obrigada!

A todos o meu muito obrigada!

**“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso!  
Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus,  
estará com você por onde você andar.”**

**Josué 1:9**

## RESUMO

O envelhecimento é considerado um processo natural da vida, sendo a fase idosa associada com o desenvolvimento de diversas doenças, a exemplo das doenças crônicas, neurodegenerativas e neuropsiquiátricas. Com isso, a população idosa vem cada vez mais se conscientizando sobre a importância da alimentação equilibrada, que propicie saúde e bem-estar. As plantas alimentícias não convencionais, são excelentes fontes nutricionais e funcionais, como a *Opuntia ficus-indica*, planta que apresenta na sua composição antioxidantes, os quais atuam no combate dos radicais livres no organismo, reduzindo os processos oxidativos e inflamatórios, minimizando dessa maneira a ansiedade. Logo, esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do consumo da farinha de palma sobre o comportamento de ansiedade e peroxidação lipídica do cérebro de ratos idosos. Para isso, os animais foram divididos em quatro grupos (n=10). Grupo controle (GC) – tratado com a ração AIN-93M, P5% (grupo tratado com a ração AIN-93M, com adição de 5% da farinha de palma); P10% (grupo tratado com a ração AIN-93M, com adição de 10% da farinha de palma) e P15% (grupo tratado com a ração AIN-93M, com adição de 15% da farinha de palma). Os animais receberam a ração durante quatro semanas, após esse período foram submetidos aos testes comportamentais para aferição da ansiedade: campo aberto, labirinto em cruz elevado e caixa claro-escuro. Ao finalizar os testes comportamentais, os animais foram eutanasiados, o cérebro foi retirado para determinar a peroxidação lipídica. Os dados foram analisados no ANOVA one-way levando-se em consideração o nível de significância de  $p < 0,05$ . Com relação ao campo aberto os animais P5%, P10% e P15% realizaram um maior número de rearing e permaneceram por mais tempo no centro do aparato, comparado ao grupo controle, sendo P15% o grupo que permaneceu por mais tempo, em comparação a todos os grupos experimentais. No que diz respeito a locomoção e grooming não houve diferença significativa entre os grupos. No labirinto em cruz elevado os grupos P5%, P10% e P15% permaneceram mais tempo nos braços abertos, comparado ao grupo controle, já P15% permaneceu mais tempo nessa região e menos tempo nos braços fechados, comparado aos demais grupos. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos quanto o tempo de permanência dos animais no centro do aparato; P5%, P10% e P15% realizaram um maior número de mergulho de cabeça. Quanto a caixa claro-escuro, P15% permaneceu por mais tempo na parte clara, menos tempo na parte escura e realizou um menor número de transições. P5%, P10% e P15% apresentaram concentrações mais baixas de peroxidação lipídica. Nossos dados demonstraram que o consumo da farinha de palma por ratos idosos promoveu efeitos ansiolíticos e minimizou a peroxidação lipídica cerebral. Diante do exposto, pode-se deduzir que a palma forrageira pode contribuir para prevenção e/ou tratamento da ansiedade.

**Palavras-chave:** figueira-da-índia; antioxidantes; envelhecimento; ansiolítico.

## ABSTRACT

Aging is considered a natural process of life, and the elderly phase is associated with the development of several diseases, such as chronic, neurodegenerative and neuropsychiatric diseases. As a result, the elderly population is increasingly becoming aware of the importance of a balanced diet that promotes health and well-being. Unconventional food plants are excellent nutritional and functional sources, such as *Opuntia ficus-indica*, a plant that has antioxidants in its composition, which act in the fight against free radicals in the body, reducing oxidative and inflammatory processes, thus minimizing anxiety. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of palm flour consumption on anxiety behavior and lipid peroxidation in the brain of elderly rats. For this, the animals were divided into four groups (n=10). Control group (CG) – treated with AIN-93M ration, P5% (group treated with AIN-93M ration, with addition of 5% palm flour); P10% (group treated with the AIN-93M diet, with the addition of 10% palm flour) and P15% (group treated with the AIN-93M diet, with the addition of 15% palm flour). The animals received the feed for four weeks, after which they were submitted to behavioral tests to measure anxiety: open field, elevated plus maze and light-dark box. At the end of the behavioral tests, the animals were euthanized, the brain was removed for determination of lipid peroxidation. Data were analyzed by one-way ANOVA taking into account the significance level of  $p < 0.05$ . In relation to the open field, animals P5%, P10% and P15% performed a greater number of rearings and remained longer in the center of the apparatus, in relation to the control group, with P15% being the group that remained longer, in relation to all the experimental animals. groups. Regarding locomotion and grooming, there was no significant difference between the groups. In the elevated plus maze, groups P5%, P10% and P15% remained longer in the open arms compared to the control group, while P15% remained longer in this region and less time in the closed arms compared to the other groups. No significant differences were observed between the groups regarding the length of stay of the animals in the center of the apparatus; P5%, P10% and P15% performed a greater number of head dives. As for the light-dark box, P15% spent more time in the light part, less time in the dark part and performed fewer transitions. P5%, P10% and P15% showed lower concentrations of lipid peroxidation. Our data demonstrated that consumption of palm flour by elderly rats promoted anxiolytic effects and minimized cerebral lipid peroxidation. Given the above, it can be deduced that cactus pear can contribute to the prevention and/or treatment of anxiety.

**Keywords:** prickly pear; antioxidants; aging; anxiolytic.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Plantação da palma forrageira ( <i>Opuntia fíus-indica</i> ) .....	23
<b>Figura 2</b> - Fruto da palma forrageira ( <i>Opuntia fíus-indica</i> ) .....	23
<b>Figura 3</b> - Fluxograma de obtenção da farinha da palma.....	25
<b>Figura 4</b> - Etapas do processamento da ração elaborada a partir da farinha de palma .....	26
<b>Figura 5</b> - Delineamento Experimental .....	30
<b>Figura 6</b> - Aparato do campo aberto.....	31
<b>Figura 7</b> - Aparato do labirinto em cruz elevado.....	32
<b>Figura 8</b> - Aparato da caixa claro-escuro.....	33

## ARTIGO

<b>Figura 1</b> - Teste de campo aberto realizado em ratos idosos tratados com 5, 10 e 15% da farinha de palma.....	52
<b>Figura 2</b> - Teste do labirinto em cruz elevado realizado em ratos idosos tratados com 5, 10 e 15% da farinha de palma.....	54
<b>Figura 3</b> - Teste da caixa claro-escuro realizado em ratos idosos tratados com 5, 10 e 15% da farinha de palma.....	55
<b>Figura 4</b> - Concentração de malonaldeído (MDA) em ratos idosos tratados com 5, 10 e 15% da farinha de palma.....	56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição das dietas experimentais .....	26
---	----

## ARTIGO

<b>Tabela 1</b> - Composição das dietas experimentais.....	45
--	----

<b>Tabela 2</b> - Teor total de fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante da farinha de palma ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ).....	52
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>ABTS</b>	2,2'-azinobis- (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
<b>CA</b>	Campo aberto
<b>CE</b>	Caixa claro-escuro
<b>CES</b>	Centro de Educação e Saúde
<b>cm</b>	Centímetros
<b>DCNT</b>	Doenças crônicas não transmissíveis
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>EAG</b>	Equivalentes de Ácido Gálico
<b>EC</b>	Equivalente Catequina
<b>FRAP</b>	Ferric ion reducing antioxidant power
<b>g</b>	Gramas
<b>GC</b>	Grupo controle
<b>HPA</b>	Eixo hipotálamo – hipófise – adrenal
<b>Kcal</b>	Quilocalorias
<b>Kg</b>	Kilogramas
<b>MDA</b>	Malondialdeído
<b>min.</b>	Minutos
<b>P10%</b>	Grupo farinha de palma 10%
<b>P15%</b>	Grupo farinha de palma 15%
<b>P5%</b>	Grupo farinha de palma 5%
<b>PANC</b>	Planta alimentícia não convencional
<b>PH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>ppm</b>	Partes por milhão
<b>RL</b>	Radicais livres
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>UFCG</b>	Universidade Federal de Campina Grande
<b>UFPB</b>	Universidade Federal da Paraíba
<b>%</b>	Percentual
<b>±</b>	Mais ou menos
<b>°C</b>	Graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>18</b>
2.1 O ENVELHECIMENTO E A RELAÇÃO COM AS ALTERAÇÕES DO ORGANISMO .....	18
2.2 ANSIEDADE .....	19
2.3 ANTIOXIDANTES .....	20
2.4 O PAPEL DOS ANTIOXIDANTES NO CONTROLE DA ANSIEDADE .....	21
2.6 PALMA ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ) .....	22
<b>3 ABORDAGEM METODOLÓGICA</b> .....	<b>24</b>
3.1 AMOSTRA .....	24
3.2 ELABORAÇÃO DA FARINHA .....	25
3.4 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DE PALMA .....	27
3.5 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA FARINHA DE PALMA .....	27
3.5.1 Compostos Fenólicos Totais (CFT) .....	28
3.5.2 Flavonoides Totais .....	28
3.5.3 Atividade Antioxidante – Método de Redução de Ferro (FRAP) .....	28
3.5.2 Atividade Antioxidante – Método Inibição do Radical 2,2'-azinobis (ABTS) .....	29
3.6 ENSAIO BIOLÓGICO .....	29
3.6.1 Animais e dietas experimentais .....	29
Testes comportamentais .....	30
3.6.2.1 Teste do Campo Aberto (CA) .....	31
3.6.2.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) .....	31
3.6.2.3 Teste da Caixa Claro-escuro (CE) .....	32
3.7 EUTANÁSIA .....	33
3.8 DETERMINAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO – MALONDIALDEÍDO (MDA) .....	33
3.9 ASPECTOS ÉTICOS .....	34
3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	34
REFERÊNCIAS .....	35
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>42</b>
Artigo I .....	42
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>60</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento é considerado um processo natural da vida, associado ao declínio progressivo das funções cognitivas (OROSZI *et al.*, 2022). A velhice acarreta algumas consequências no organismo, nessa fase é comum o aumento da prevalência de problemas de saúde a exemplo das doenças cardiovasculares, neoplasias, doenças reumatológicas e alguns transtornos mentais (BELLORA *et al.*, 2021). Na fase idosa pode acontecer aumento nos níveis de ansiedade e depressão, tendo em vista que o envelhecimento está associado com a incidência de condições patológicas no sistema nervoso central (SNC), como a diminuição do volume cerebral, velocidade do fluxo sanguíneo e aumento da neurodegeneração (VINK *et al.*, 2009; OROSZI *et al.*, 2022).

A ansiedade é considerada como uma reação natural favorável para proteção e adaptação, torna-se patológica quando atinge um caráter extremo e generalizado, causando impacto negativo na qualidade de vida dos idosos (OLIVEIRA; ANTUNES; OLIVEIRA., 2017). Na maioria das vezes o tratamento da ansiedade na população idosa é realizado através de medicamentos psicotrópicos (BELLORA *et al.*, 2021). Entretanto, o consumo de algumas plantas ricas em compostos bioativos pode atuar na prevenção e/ou tratamento da ansiedade.

As plantas alimentícias não convencionais (PANC), são consideradas uma excelente fonte alimentar, tendo em vista que possuem em sua grande maioria, nutrientes essenciais para o organismo humano, sendo considerada excelente fonte nutricional e funcional (LIBERATO *et al.*, 2019). Os compostos bioativos com potencial antioxidante, os quais estão presentes nas PANC, atuam na preservação de estruturas do SNC (sistema nervoso central) contra o ataque de radicais livres (RL) (CHISTÉ *et al.*, 2014), como também contribui para a neogênese e a prevenção de distúrbios neuropsiquiátricos, a exemplo da ansiedade (SALEM *et al.*, 2001)

Dentre as PANC destaca-se a palma (*Opuntia ficus-indica*), que possui em sua composição fibras, antioxidantes (flavonóides, ascorbato), pigmentos (carotenóides, betalaínas), ácidos fenólicos, biopeptídeos e quantidades consideráveis de zinco e magnésio (DÍAZ *et al.*, 2017; SILVA, *et al.*, 2021). Estudos mostram que a utilização de plantas com potencial antioxidante causa efeito benéfico em algumas patologias, bem como, promove efeito positivo contra os radicais livres, envelhecimento e inflamação (SINGH *et al.*, 2019; EL - HAWARY *et al.*, 2020)

A palma por sua vez, apesar de ser considerada um alimento rico nutricionalmente, ainda é pouco explorado e conseqüentemente pouco estudada. Levando em consideração que a farinha da palma é um alimento rico em antioxidantes, o questionamento norteador dessa pesquisa é: como o perfil antioxidante presente na palma (*Opuntia ficus-indica*) pode influenciar o comportamento de ansiedade e peroxidação lipídica cerebral em animais tratados com esta matriz? Testaremos a seguinte hipótese: o perfil de antioxidantes provenientes da palma bem como, os compostos bioativos e minerais presentes nesta matriz quando consumidos, favorecem a redução do estresse oxidativo e induz um comportamento ansiolítico.

Diante do exposto, objetivamos com essa pesquisa avaliar os efeitos da farinha de palma (*Opuntia ficus-indica*) sobre os parâmetros de ansiedade e peroxidação lipídica cerebral em ratos idosos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 O ENVELHECIMENTO E A RELAÇÃO COM AS ALTERAÇÕES DO ORGANISMO

O envelhecimento é considerado um fenômeno natural da vida. Evidências apontam que de 2017 a 2050, o número de idosos deve dobrar nos países em desenvolvimento (SILVA *et al.*, 2019). A fase idosa é marcada por alterações biológicas, psicológica e social, é caracterizado como sendo um processo complexo e individualizado (DZIEHCIAZ; FILIP, 2014).

O envelhecimento biológico está associado com alterações progressivas no metabolismo no indivíduo, acarretando assim o comprometimento da auto-regulação, regeneração e ocasionando dessa maneira alterações estruturais e funcionais dos órgãos e tecidos. Além do mais, as alterações biológicas afetam o humor, as condições físicas e o desenvolvimento social do idoso. O avanço da idade aumenta as dificuldades de adaptação a situações novas, alguns idosos apresentam dificuldade em encarar o processo de envelhecimento, sendo comum nessa fase o isolamento social (DZIEHCIAZ; FILIP, 2014; WINTER *et al.*, 2015).

Devido a urbanização crescente e a modernização ocorreram diversas mudanças no estilo de vida das pessoas, como também gera mudanças nos hábitos alimentares, acarretando dessa maneira o aumento da prevalência das doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) (DOLINSKY *et al.*, 2015; NAYAK *et al.*, 2021). Atualmente a promoção do envelhecimento de forma saudável vem sendo considerado um grande desafio (BORGONI *et al.*, 2021). Segundo a OMS (2017), 71% das mortes são ocasionadas por DCNTs, sendo considerada a maior causa de mortes no mundo. Essa incidência se dá devido o progresso lento, comportamento inadequados a longo prazo, fatores genéticos, ambientais, socioeconômicos e comportamentais (SKYBOVÁ *et al.*, 2021).

A fase idosa é considerada como o mais profundo fator de risco para quase todas as doenças crônicas, a exemplo das doenças cardiovasculares, câncer, diabetes e doenças neurológicas, essas patologias estão relacionadas com a idade e podem afetar a qualidade de vida e a saúde dos indivíduos. Dentre os fatores que contribuem para o processo do

envelhecimento, destaca-se: danos no DNA, alterações na expressão de genes e RNA, genotoxicidade e estresse oxidativo (WAGNER *et al.*, 2016; PYO *et al.*, 2020).

Evidências apontam que o aumento da idade é considerado um fator de risco para a maioria das doenças neurodegenerativas, a exemplo da doença de Alzheimer e da doença de Parkinson (HOU *et al.*, 2019). Mudanças no estilo de vida, incluindo aumento de atividade física, alimentação saudável, sono regular, entre outros, podem trazer melhorias na saúde dos indivíduos na fase idosa (PARTTRIDGE; DEELEN; SLAGBOOM, 2018).

O aumento da incidência de transtornos psicológicos na população idosa vem crescendo cada vez mais, de acordo com a OMS, estimas que aproximadamente um de cada dez idosos apresentam problemas psicológicos, sendo a ansiedade a mais comum entre os idosos (SANTOS *et al.*, 2019).

## 2.2 ANSIEDADE

A ansiedade é caracterizada pelo sentimento de apreensão e nervosismo, diante a qualquer experiência de preocupação. As pessoas com transtornos de ansiedade apresentam alto grau de sofrimento psicológico, incapacidade e conseqüentemente redução significativa na qualidade de vida (AUCOIN, 2021). A ansiedade está relacionada com dificuldades em termos de aprendizagem, podendo interferir na resolutividade de problemas (LOPES, 2018).

O mecanismo neural envolvido no medo/ansiedade envolve a concepção e integração das informações sensoriais provenientes dos estímulos sinalizadores de perigo. Durante e depois do processamento sensorial, as mensagens são enviadas ao tálamo, e projetadas para amígdala. Esse processo pode ocorrer de duas maneiras: tálamo – amígdala (via direta) e tálamo – córtex – amígdala (via indireta). As informações oriundas da via direta organizam-se em série de reações fisiológicas e comportamentais para a proteção do organismo, já as mensagens provenientes da via indireta, são encaminhadas para o córtex cerebral, e projetadas para a amígdala, estando relacionadas com o processamento dos aspectos emotivos e mnemônicos (FANSELOW; LEDOUX, 1999).

A ansiedade pode ser considerada normal quando é proveniente de respostas do organismo, já quando é decorrente de pensamentos negativos, preocupações sem causas definidas, quando acarreta sofrimentos ou quando a intensidade passa a ser progressiva, esta é considerada como patológica (DSM-5, 2014). A ansiedade se torna prejudicial na

vida do indivíduo quando se torna excessiva, trazendo consigo prejuízos no convívio social e até mesmo dificuldade de lidar consigo mesmo (SANTANA; SILVA, 2015).

Na terceira idade ocorre o aumento da morbidade e mortalidade, dados recentes apontam que a ansiedade na fase idosa está interligada com esses fatores. Diversos fatores estão relacionados com o surgimento da ansiedade na fase idosa, com o aumento da idade ocorre o aumento da incidência das doenças. A detecção da ansiedade na fase idosa é bastante complicada, pois os sintomas são semelhantes ao processo natural do envelhecimento, a exemplo do declínio cognitivo (BALSAMO *et al.*, 2018).

Estudos apontam que as plantas medicinais ou medicamentos fitoterápicos contribuem de forma positiva nos sintomas da ansiedade (LOPES; SANTOS, 2018). A utilização das plantas medicinais pode auxiliar na redução dos sintomas como, nervosismo, estresse, náuseas e taquicardia. O uso das ervas medicinais é feito na maioria das vezes pela população idosa que almejam o tratamento de doenças crônicas e neurológicas, evitando assim o uso de medicamentos (BORTOLUZZI; SCHMITT; MAZUR, 2020).

### 2.3 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são substâncias que têm a capacidade de proteger as células contra o ataque de RL os quais são produzidos pelo organismo (WANG *et al.*, 2023). Os radicais livres correspondem as moléculas que são liberadas pelo próprio metabolismo do corpo, estes estão associados com as causas das doenças neurodegenerativas, envelhecimento e morte celular (VASCONCELOS *et al.*, 2014; ALKADI, 2020).

O próprio organismo produz os antioxidantes, os quais atuam no combate dos radicais livres no organismo, algumas vezes a produção do corpo não é suficiente para combater os RL, sendo necessário a ingestão através da alimentação. A ingestão de antioxidantes da dieta busca contrabalançar a defesa antioxidante do organismo (PISOSCHI *et al.*, 2016; TURECK *et al.*, 2017).

O estresse oxidativo está associado como o principal causador da progressão de várias doenças (UNUOFIN; LEBELO, 2020). O aumento das defesas de antioxidantes no organismo, principalmente por meio da alimentação, é uma das maneiras mais eficazes de combater os danos indesejáveis causados pelos RL. Sendo assim, as plantas possuem a capacidade de biossintetizar uma ampla quantidade de antioxidantes, os quais são capazes de combater ou até mesmo reduzir os danos oxidativos induzidos pelo RL

(KASOT, *et al.*, 2015). Estudos mostram que a utilização de plantas que possuem em sua composição antioxidantes demonstram efeito benéfico em algumas patologias, bem como, promovem efeito contra os RL, envelhecimento e inflamação (SINGH *et al.*, 2019; EL - HAWARY *et al.*, 2020).

Os antioxidantes estão intimamente relacionados com a prevenção das DCNTs, principalmente as caracterizadas por distúrbios inflamatórios e de estresse oxidativo, a exemplo da diabetes e doenças cardiovasculares (ALKHATIB *et al.*, 2017; ALKHATIB *et al.*, 2018). Também, apresentam efeitos benéficos nas atividades metabólicas e microvasculares, contribuindo assim para redução da glicemia de jejum e colesterol (ALKHATIB *et al.*, 2018; ALKHATIB *et al.*, 2019). Ademais, alimentos fontes de antioxidantes desempenham um papel importante na prevenção e na redução dos sintomas da ansiedade (WANG *et al.*, 2022).

#### 2. 4 O PAPEL DOS ANTIOXIDANTES NO CONTROLE DA ANSIEDADE

Uma revisão sistemática realizada através do *Lance*, demonstrou que no ano de 2020 houve um aumento de cerca de 27,6% de pessoas com depressão, já a prevalência dos transtornos de ansiedade aumentou cerca de 76 milhões (2021).

Intervenções específicas que venham propiciar melhoras no estado de ansiedade é de extrema importância para as políticas de saúde pública. Uma série de fatores relacionados ao estilo de vida estão envolvidos na patogênese da ansiedade (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2021). A literatura científica atual sugere que os padrões alimentares saudáveis, ingestão de nutrientes específicos e alimentação balanceada, podem prevenir e/ou ajudar nos sintomas da ansiedade e depressão (NEHA *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2022). Evidências apontam que a ingestão de alimentos ricos em flavonoides pode reduzir os sintomas de ansiedade e depressão (ALI *et al.*, 2021).

#### 2.5 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC)

O termo PANC surgiu no ano de 2008 através do biólogo e professor Valdely Ferreira Kinuppe, e corresponde a todas as plantas as quais possuem partes comestíveis, que são utilizadas nos hábitos alimentares da sociedade, estas podem ser de origem exóticas ou nativas, espontânea ou cultivadas (BEZERRA *et al.*, 2020). As PANC são as plantas as quais ainda não foram completamente estudadas pela comunidade científica,

apresentando assim dificuldade de aceitação e consumo por parte da população (BRASIL, 2010).

As plantas não convencionais já foram bastante utilizadas, porém, devido ao êxodo rural e os avanços tecnológico, bem como a modernização da agricultura e o melhoramento genético, as mesmas foram sendo esquecidas (KELEN *et al.*, 2015). O Brasil possui cerca de 3 mil espécies de plantas alimentícias não convencionais, (ZAPPI *et al.*, 2012).

As PANC são consideradas ótimas opções para serem incluídas nos cardápios alimentares diários, além de diversificar a alimentação, também propiciam benefícios aos indivíduos quando incluídas nos hábitos alimentares. Destacam-se devido seu valor nutricional, apresentando em sua composição vitaminas, fibras, antioxidantes e sais minerais (JACOB, 2020; LIBERATO, LIMA & SILVA, 2019; RIBEIRO & DURIGAN, 2018; KELEN *et al.*, 2015).

## 2.6 PALMA (*Opuntia ficus-indica*)

A palma forrageira, a qual possui seu nome científico *Opuntia ficus-indica*, é uma planta tropical, pertencente à família das cactáceas, classificadas como suculentas com frutos comestíveis, com ampla diferenciação anatômica, assim como, alta capacidade fisiológica da conservação de água. Abundantemente distribuídas nas regiões áridas e semi-áridas do Brasil (HABIBI *et al.*, 2008; FERNADES, 2019).

É uma planta originária do México, no Brasil tem uma maior predominância na região Nordeste, devido ao clima semiárido, tendo em vista que é típica de regiões secas e quentes (VICTOR *et al.*, 2017; ERVIN, 2012).

É considerada uma planta de alto recurso alimentar para animais que vivem em regiões secas, a exemplo de bovinos, ovinos e caprinos. Destaca-se devido ao seu uso eficiente da água, como também a capacidade de suportar secas prolongadas. Possui uma grande capacidade adaptativa as condições adversas das zonas semiáridas (BARBERA *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2013; DUBEUX JÚNIOR *et al.*, 2015; GUSHA *et al.*, 2015; EDVAN *et al.*, 2020).

Em países como Estados Unidos, Japão e México a palma forrageira é utilizada na alimentação humana (MOURA-FÉ *et al.*, 2012). Na região Nordeste a palma é comumente utilizada como fonte alimentar para bovinos, possuindo eficácia também na medicina popular, e como corante natural (NUNES, 2011).

Esta cactácea (Figura 1), possui cladódios verdes achatadas cobertas por espinhos, cactos ramificados, de aspecto suculento, medindo cerca de 3 a 5 metros de altura, flores amareladas e frutos de coloração amarela e vermelha também cobertos de espinhos com polpa suculenta e semente comestível (SANTIAGO *et al.*, 2018). A palma forrageira, possui um fruto (Figura 2) denominado de figo-da-índia, este fruto apresenta na sua composição cerca de 85% de água, 15% de açúcar, 1% de proteínas, valores consideráveis de vitamina A, complexo B, complexo C, cálcio, potássio, magnésio, sódio e aminoácidos, o que o torna bastante nutritivo (MOURA- FÉ *et al.*, 2013).

**Figura 1:** Plantação da palma forrageira (*Opuntia fíus-indica*)



(Fonte: EMBRAPA, 2012)

**Figura 2:** Fruto da palma forrageira (*Opuntia fíus-indica*)



(Fonte: EMBRAPA, 2012)

As partes vegetativas da palma (*Opuntia fícus- indica*) possui em sua composição quantidades consideráveis de fibras, antioxidantes (flavonoides, escorbato), pigmentos, como, carotenoides, betalaínas e indicaxantina, como também, ácidos fenólicos e minerais, a exemplo do zinco e magnésio; estes nutrientes são responsáveis pelos benefícios que possuem esta matriz, contribuindo principalmente nas melhorias das

doenças crônicas, bem como na redução de comportamento do tipo ansioso (DÍAZ, 2017; SILVA, *et al.*, 2021).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2017), a palma pode ser considerada um ótimo recurso para o combate a fome em diversas regiões, tendo em vista que esta pode ser utilizada de diversas formas. A FAO recomenda que os países produtores da palma disseminem mais conhecimentos sobre este produto, desde ao custo até sua funcionalidade, afim de um maior reconhecimento populacional e conseqüentemente um maior uso.

Além do mais, a FAO incentiva o desenvolvimento das políticas públicas afim de um melhor resultado na produtividade, gerando dessa maneira inovações, visando atingir um maior conhecimento das riquezas e potencialidades da palma, com o intuito de aumentar a competitividade da economia (FAO, 2017).

A *Opuntia ficus-indica* é bastante utilizada para a saúde, pois possui um alto teor de polifenóis e propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e ansiolíticas. Os cactos são excelentes opções para o desenvolvimento de alimentos nutracêuticos e de propriedades funcionais, tendo em vista que possui fonte essencial de substâncias bioativas e de antioxidantes dietéticos tornando-a promotora da saúde (ALBANO *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2021).

No que diz respeito o perfil dos ácidos graxos dos cladódios, estudo desenvolvido por Andreu-Coll *et al.* (2019) verificou-se a presença de ácidos graxos livres como o ácido palmítico (C16:0), o ácido oleico (C18:1), o ácido linoléico (C18:2) e o ácido linolênico (C18:3). Os ácidos graxos, desempenham funções de suma importância na estrutura das membranas, bem como, nos processos metabólicos, ademais, mantem em estado normal as funções cerebrais e transmissões de impulsos nervosos (MARTIN *et al.*, 2006).

### **3 ABORDAGEM METODOLÓGICA**

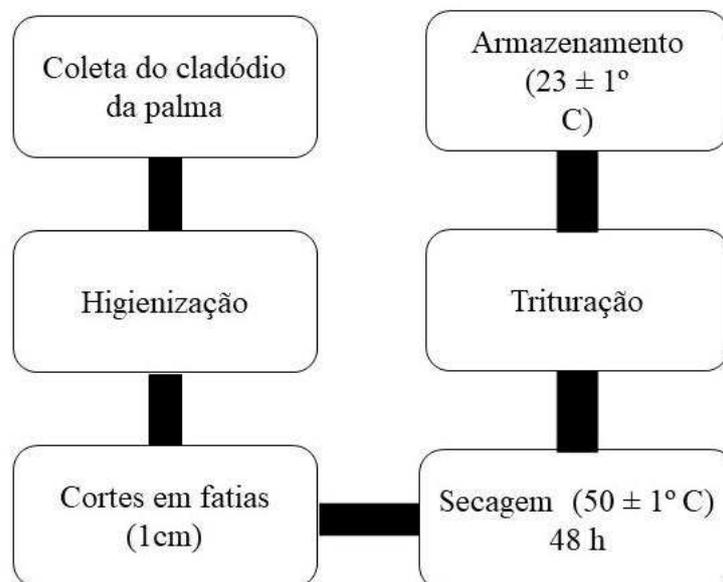
#### **3.1 AMOSTRA**

A farinha da palma (*Opuntia ficus-inidica*) foi fornecida pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB) - Campus de Bananeiras. Os demais ingredientes para produção da ração foram obtidos pela RHOSTER, indústria e comércio LTDA e pelo comércio local.

### 3.2 ELABORAÇÃO DA FARINHA

Após a coleta da palma, os cladódios passaram pelo processo de retirada dos espinhos, essa retirada foi feita de forma manual com o auxílio de uma faca, logo em seguida foram cortados em fatias de 1cm, e posteriormente higienizados com solução clorada a 200ppm e enxaguados. Após esse processo, as fatias dos cladódios da palma foram distribuídas em bandejas de aço inox, e colocada em estufa de circulação de ar forçado (Biopar, modelo S480 AD, Porto Alegre – RS, Brasil) a temperatura de  $50 \pm 1$  °C por 48 horas. Logo após a secagem, o material foi triturado em liquidificador (Philco, modelo LQ PH900 PR, Brasil) e peneirado utilizando uma tela de 0,5 mm, para obtenção de uma farinha fina com granulometria uniforme. Em seguida, a farinha foi pesada, embalada e armazenada em temperatura ambiente a  $23 \pm 1$  °C, até o momento de realizar as análises e elaborar a ração. O fluxograma da obtenção da farinha está exposto na figura 3.

**Figura 3.** Fluxograma de obtenção da farinha da palma



**Fonte:** Próprio autor 2022.

### 3.3 ELABORAÇÃO DA RAÇÃO

Foi elaborada uma ração com base nas diretrizes da AIN-93M (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) que é a dieta formulada para roedores. Foi adicionada as dietas experimentais 5, 10 e 15% da farinha de palma. Para elaboração da ração utilizou-se os ingredientes conforme mostra na tabela 1.

Para a produção da ração todos os ingredientes foram pesados e posteriormente misturados, a mistura foi peneirada e depois acrescentada 40 ml de óleo de soja, novamente foi misturada e peneirada. Após esse processo foi adicionado água morna, até a massa ficar sorvada, depois a massa foi colocada em bandejas de alumínio e espalhada com um rolo, logo em seguida cortada em cubos com o auxílio de uma faca de mesa e levada para estufa por vinte e quatro horas, após esse período a ração foi retirada da estufa e colocada em temperatura ambiente durante uma hora, após esse tempo foi desenformada e embalada em saco plástico, ficando armazenada sobre refrigeração (figura 4).

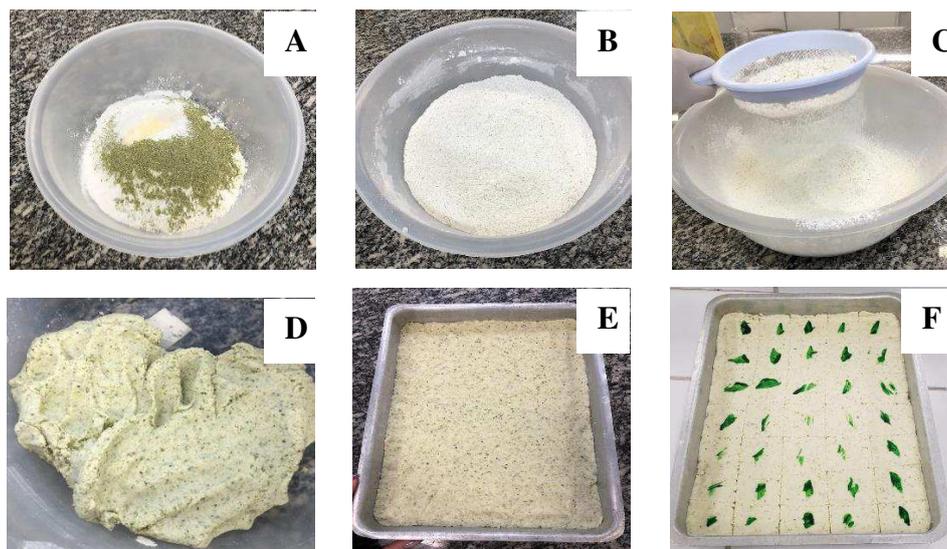
**Tabela 1** – Composição das dietas experimentais.

<b>Ingredientes (g/kg)</b>	<b>Controle</b>	<b>Palma 5%</b>	<b>Palma 10%</b>	<b>Palma15%</b>
Amido	620,692	570,692	520,692	470,692
Caseína	140,00	140,00	140,00	140,00
Sararose	100,00	100,00	100,00	100,00
Óleo de soja	40,00	40,00	40,00	40,00
Celulose	50,00	50,00	50,00	50,00
Farinha Palma	-	50,00	100,00	150,00
Minerais	35,00	35,00	35,00	35,00
Vitaminas	10,00	10,00	10,00	10,00
Metionina	1,800	1,800	1,800	1,800
Bitartarato de Colina	2,500	2,500	2,500	2,500
Tetrabutyl Hidroquinona	0,008	0,008	0,008	0,008
<b>TOTAL</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>

Foi adicionado água morna até a ração obter o ponto de homogeneização.

**Fonte:** Próprio autor 2022.

**Figura 4.** Etapas do processamento da ração elaborada a partir da farinha de palma



**Fonte:** Próprio autor 2022. **A:** pesagem dos ingredientes; **B:** mistura dos ingredientes; **C:** peneiramento; **D:** obtenção da massa; **E:** ração pronta para ir para estufa; **F:** ração após 24h na estufa.

### 3.4 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DE FIBRAS DA FARINHA DE PALMA

O teor de cinzas foi obtido por incineração em forno mufla (JUNG, modelo 0612, Blumenau - SP, Brasil) estabilizado a 550 °C. Os lipídeos foram determinados pelo método de Folch, Less e Sloane-Stanley (1957). Carboidratos determinados pela diferença (proteínas, lipídeos, cinzas e umidade) e pelo cálculo de 100 g da amostra. Para a determinação de fibras totais, solúveis e insolúveis foi utilizado o método enzimático-gravimétrico (HORWITZ *et al.*, 2005; PROSKY *et al.*, 1995).

### 3.5 DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA FARINHA DE PALMA

O teor de polifenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante *in vitro* (FRAP e ABTS), foram realizadas em triplicata por meio da extração dos constituintes bioativos, o extrato foi utilizado para todos os ensaios. A extração foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Silva *et al.* (2021), com algumas modificações. Inicialmente, foram pesados 1 g da farinha da palma em um tubo Falcon e adicionaram-se 10 mL de álcool etílico a 80%. Em seguida, o tubo com a mistura foi agitado em vórtex (Logen Scientific, modelo LSM56-II-VM, Fortaleza/Ceará, Brasil) por 60 segundos e, posteriormente, deixado em repouso na ausência da luz em temperatura ambiente ( $23 \pm 1$  °C) por 24 horas. Após, a mistura foi filtrada em papel filtro Whatman, de 125 mm, sendo

o volume completado para 10 mL com o solvente de extração. O extrato foi recolhido em frasco âmbar e armazenado em freezer a -18 °C até o momento das análises.

### **3.5.1 Compostos Fenólicos Totais (CFT)**

Para obtenção do teor de compostos fenólicos totais da farinha de palma foi utilizada a metodologia descrita por Liu et al. (2002) com algumas modificações. No tubo de ensaio foi misturado 250 µL de cada amostra com 1250 µL do reagente Folin-Ciocalteu à 10%, as soluções foram agitadas em vórtex e armazenadas em temperatura ambiente (23°C) na ausência da luz por 6 minutos. Logo em seguida, foram adicionados 1000 µL da solução de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi levada ao Banho Maria Termostático SL 150, marca SOLAB, Piracicaba – São Paulo, Brasil, a uma temperatura de 50°C, durante 5 minutos. Após, a absorbância foi medida a 765 nm utilizando espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Para zerar o espectrofotômetro foi elaborado uma amostra “branco” com a ausência dos extratos. Os compostos fenólicos totais foram determinados através de uma curva padrão preparada com ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 gramas de amostra (mg EAG/100 g).

### **3.5.2 Flavonoides Totais**

O teor de flavonoides totais foi determinado com base na metodologia de Zhishen; Mengcheng; Jianming (1999). Uma alíquota de 0,5 mL da farinha de palma foi adicionada à 2 mL de água destilada em um tubo de ensaio. Em seguida, foi adicionado 150 µL de nitrito de sódio a 5%. Após 5 minutos, 150 µL de cloreto de alumínio a 10% foram adicionados e, após 6 minutos, 1 mL de hidróxido de sódio a 1 M, seguido pela adição de 1,2 mL de água destilada. A absorbância da amostra foi medida a 510 nm usando um espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil) contra um branco na ausência dos extratos. Para obtenção do teor de flavonoides totais foi utilizado uma curva padrão de equivalentes de catequina. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de catequina por 100 gramas de amostra (mg EC/100 g).

### **3.5.3 Atividade Antioxidante – Método de Redução de Ferro (FRAP)**

A atividade antioxidante foi realizada com base na metodologia descrita por Benzie e Strain (1996), adaptada por Rockenbach et al. (2011). Para a análise, foi utilizado 200  $\mu\text{L}$  do extrato da farinha de palma e adicionado a 1800  $\mu\text{L}$  do reagente FRAP em um tubo de ensaio e levados ao banho maria a 37 °C por 30 minutos. Para cada amostra adicionado uma amostra branca, ou seja, sem o extrato. Após, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 593 nm. Para obtenção do resultado da atividade antioxidante (FRAP) foi utilizada a curva de calibração com Trolox e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de trolox/g de amostra.

### **3.5.2 Atividade Antioxidante – Método Inibição do Radical 2,2'-azinobis (ABTS)**

Para realização do método ABTS utilizou-se a metodologia descrita por Sariburun et al. (2010), com algumas modificações. Inicialmente, formou o radical ABTS. Uma vez formado o radical, o mesmo foi diluído em água destilada até obter o valor de absorbância de 0,800 ( $\pm 0,020$ ) a 734 nm. Após isso foi transferido para um tubo de ensaio uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  dos extratos e adicionado 500  $\mu\text{L}$  do radical ABTS em ambiente escuro. Os tubos de ensaio foram mantidos na ausência de luz por 6 minutos. Em seguida, foi realizado a leitura a 734 nm em espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Posteriormente foi elaborada uma solução “controle” que consiste em uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  do solvente extrator adicionada de 500  $\mu\text{L}$  do radical ABTS. A solução “branca” foi o solvente extrator de cada extrato, utilizada para zerar o espectrofotômetro. Como base foram utilizados o Trolox e os resultados expressos em  $\mu\text{M}$  trolox/g de amostra.

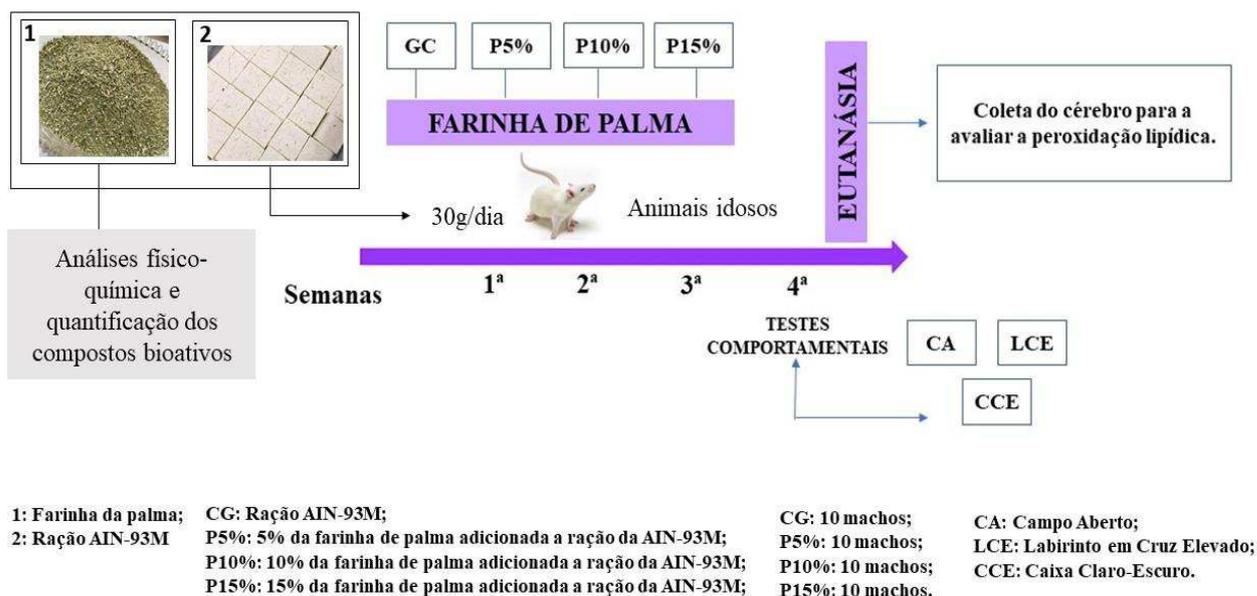
## **3.6 ENSAIO BIOLÓGICO**

### **3.6.1 Animais e dietas experimentais**

Foram utilizados 40 ratos machos, idosos, com idade de 18 meses, da linhagem *Wistar*, os quais ficaram dispostos em gaiolas polietileno, sendo 3 animais pôr gaiola, dispondo de monitoramento de temperatura ( $22 \pm 1$  °C), umidade  $65 \pm 5\%$ , sistema de exaustão de ar, ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 08h30 às 20h30.

Os animais foram randomizados em quatro grupos, (n=10), Grupo Controle (GC – Ração AIN-93M), Grupo Palma 5% (P5%), Grupo Palma 10% (P10%) e Grupo Palma 15% (P15%). Os grupos tratados com palma receberam 5, 10 e 15% da farinha de palma adicionada na ração (Figura 5). Esta ração foi calculada de acordo com as diretrizes da AIN-93M, os animais foram tratados durante 4 semanas.

**Figura 5** – Delineamento Experimental



Fonte: Próprio autor (2023).

O cálculo das dietas experimentais foi baseado no estudo de Silva et al., (2003) que trataram ratos machos com a ração da AIN-93M com adição de 5, 10 e 15% do farelo de trigo e de aveia, fonte de fibras e compostos bioativos. O consumo de 30g/dia foi baseado de acordo com a metodologia de Andriguetto, (2002), descrita no livro *Nutrição Animal: As bases e os fundamentos da nutrição animal*, que estima o consumo habitual médio de 30g de ração por dia, para ratos de laboratório. Com relação a duração do tratamento, foi definida com base no estudo de Shan et al., (2009) que observaram o efeito da batata-doce roxa, fonte de antioxidante durante 4 semanas em ratos machos. Foram encontradas modificações no tecido cerebral dos ratos na fase idosa.

A pesquisa foi conduzida conforme as Diretrizes para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais.

### Testes comportamentais

Após o período de tratamento com a ração da farinha de palma, os animais passaram por testes de avaliação do comportamento de ansiedade. Os testes para aferição da ansiedade foram realizados nos aparatos do Campo Aberto, Labirinto em Cruz-Elevado e Caixa Claro-escuro.

### 3.6.2.1 Teste do Campo Aberto (CA)

O Campo Aberto consiste em uma caixa quadrada preta uniformemente iluminado, medindo 60 x 60 x 60 cm, sendo subdividida em 9 quadrantes medindo 20x20 cm (NAVA-MESA; LAMPREA; MÚNERA, 2013). O aparato do campo aberto é utilizado com o objetivo de avaliar o comportamento de atividade de ansiedade e atividade exploratória, com o objetivo de verificar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em ratos (PRUT; BELZUNG, 2003).

Após a finalização do tratamento com a ração a base da farinha de palma, os animais (individualmente) foram inseridos no centro do aparato e observados durante 10 minutos. Foram analisados os seguintes parâmetros: ambulação (número de cruzamentos dos segmentos pelo animal com as quatro patas), número de comportamentos de levantar (rearing), tempo de comportamentos de autolimpeza (grooming).

**Figura 6** – Aparato do campo aberto



Fonte: LANEX-UFMG/CES

### 3.6.2.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

O LCE é constituído por dois braços fechado medindo 50 cm x 10 cm cada e dois braços abertos medindo 50 cm x 10 cm cada, perpendiculares aos primeiros; uma área central de 10 cm x 10 cm, sendo este elevado 50 cm do solo (Figura 7). O teste do LCE

é utilizado para avaliar os parâmetros de ansiedade em roedores (FLINT, 2003; BRADLEY *et al.*, 2007).

Todos os grupos experimentais foram submetidos a esse teste, o animal foi colocado no centro do aparelho, sempre pelo mesmo pesquisador, com o focinho voltado para o braço fechado direito. Foram analisados os seguintes parâmetros: tempo de permanência dos animais nos braços abertos, fechados e no centro do aparato, bem como, número de mergulhos de cabeças pelos braços abertos, realizados pelos animais. O teste teve duração de 5 minutos.

**Figura 7** – Aparato labirinto em cruz elevado



Fonte: LANEX-UFCG/CES

### 3.6.2.3 Teste da Caixa Claro-escuro (CE)

A caixa claro-escuro consiste em uma caixa de acrílico (45 X 27 X 27cm), dividida em dois compartimentos, sendo um escuro (18 X 27cm) e outro claro (27 X 27cm). Esse aparato é utilizado para medir a ansiedade incondicionada e comportamento exploratório em roedores (BOURIN; HASCOËT, 2003).

Os animais foram colocados no centro do compartimento claro, com o focinho voltado para o compartimento escuro. Durante esse teste foram analisados: tempo de permanência do animal em cada um dos compartimentos e o número de cruzamentos que o animal faz pela porta. O teste da caixa claro-escuro teve duração de 5 minutos.

Ao finalizar as sessões, entre um animal e outros, os aparelhos foram higienizados com uma solução de álcool a 10%. Todas as sessões foram filmadas com uma câmera de

vídeo a qual foi instalada no teto do laboratório. Posteriormente os vídeos foram analisados.

**Figura 8** – Aparato caixa claro-escuro



Fonte: LANEX-UFCG/CES

### **3.7 EUTANÁSIA**

Ao término do experimento, os animais foram submetidos a 8 horas de jejum e, em seguida, anestesiados com Cloridrato de Ketamina (50mg/kg de peso do animal) e Xilasina (20mg/kg de peso do animal). O tecido cerebral foi removido por inteiro e após a coleta houve a separação dos hemisférios através de um corte longitudinal no sentido ântero-posterior. Para análise do conteúdo de malonaldeído (MDA), o hemisfério direito foi fatiado em três tiras, com utilização de uma lâmina de bisturi. Todo o procedimento foi realizado sob uma superfície de gelo e em seguida mantidos em freezer a -80° C até o momento da análise

### **3.8 DETERMINAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO – MALONDIALDEÍDO (MDA)**

Para realização da análise de MDA, utilizou-se a metodologia de Esterbauer; Cheeseman, (1990). A amostra do tecido cerebral foi descongelada e, posteriormente pesada. Após isso, foi calculada a quantidade de tampão (Tris HCL) para amostra, utilizando sempre a proporção de 1:5 (p/v). Em seguida, o tecido foi picado com uma

tesoura por aproximadamente 15 segundos em meio resfriado, o material fragmentado foi triturado e homogeneizado em temperatura fria, sob ação de um triturador (Ultra Stirrer modelo: Ultra 80), e a ele adicionado o tampão Tris HCl. O conteúdo homogeneizado foi centrifugado em uma Centrífuga de Bancada refrigerada – SL 701, marca SOLAB, Piracicaba-São Paulo, Brasil, a 2500  $xg$  por 10 minutos a 4 °C e 300  $\mu L$ , o sobrenadante foi transferido para um microtubo de 2ml, e adicionados 750  $\mu L$  do reativo cromogênico e 225  $\mu L$  de ácido clorídrico (HCl – 37%). O material foi colocado em Banho Maria Termostático SL 150, marca SOLAB, Piracicaba – São Paulo, Brasil com agitação a 45° C, durante 40 minutos, e posteriormente levado à uma centrifugação a 2500  $xg$  durante 5 minutos a 4 °C. Em seguida, foi transferido 300  $\mu L$  do sobrenadante para microplaca de 96 poços, em duplicata, e levado para leitor de microplacas (Polaris) 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 mol/g tecido.

### **3.9 ASPECTOS ÉTICOS**

O protocolo experimental seguiu as recomendações éticas do *National Institute of Health Bethesda* (Bethesda, USA), sendo conduzido conforme as Diretrizes para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais. Os animais foram anestesiados com Cloridrato de Ketamina (50mg/kg de peso do animal) e Xilasina (20mg/kg de peso do animal), todo protocolo experimental levou em consideração o bem-estar dos animais, buscando sempre minimizar o estresse e o sofrimento nos modelos experimentais.

### **3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram analisados mediante a utilização do programa software Sigma Star (versão 3.0) para realização do teste One Way ANOVA, seguindo do teste de Holm-Sidak para comparação entre os grupos experimentais. Os resultados foram expressos com média  $\pm$  SEM. As diferenças estáticas significativas foram consideradas quando  $p < 0.05$ .

## REFERÊNCIAS

- ALBANO, C. *et al.* Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear fruits [Opuntia ficus-indica (L.) Mill.]. **From Apulian genotypes (southern Italy)**, v. 4, p. 269-280, 2015.
- ALI, S. *et al.* Exploring the Impact of Flavonoids on Symptoms of Depression: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Antioxidants**, v. 10, n.11, p. 1644, 2021.
- ALI, T.; ALI, J. Factors affecting the consumers' willingness to pay for health and wellness food products. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 2, p. 100076, 2020.
- ALKADI, H. A Review on Free Radicals and Antioxidants. **Infect Disord Drug Targets**, v.20, n.1. p.16-26, 2020.
- ALKHATIB, A.; TSANG, C.; TISS, A.; THEESHAN, B.; AREFANIAN, H.; BARAKE, R.; KHADIR, A.; TUOMILEHTO, J. Functional Foods and Lifestyle Approaches for Diabetes Prevention and Management. **Nutrients**, v. 9, p. 1310, 2017.
- ALKHATIB, A.; TSANG, C.; TUOMILEHTO, J. OLIVE OIL Nutraceuticals in the Prevention and Management of Diabetes: From Molecules to Lifestyle. **International Journal of Molecular Sciences** v. 19, p. 2024, 2018.
- ANDREU-COLL, L., *et al.* Fatty acid profile of fruits (pulp and peel) and cladodes (young and old) of prickly pear [Opuntia ficus-indica (L.) Mill.] from six Spanish cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 84, 103294, 2019.
- AUCOIN, M., LACHANCE, L., NAIDOO, U., REMY, D., SHEKDAR, T., SAYAR, N., CARDOZO, V., RAWANA, T., CHAN, I., COOLEY, K. Diet and Anxiety: A Scoping Review. **Journal Nutrients**, v. 13, 2021.
- BALSAMO, *et al.* Assessment of anxiety in older adults: a review of self-report measures. **Clinical Interventions in Aging**, v. 13, p.573-593, 2018.
- BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E.P. Apresentação. In: Barbera, G.; Inglese, P.; Barrrios, E.P. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Paraíba: SEBRAE, p.s/n. (Estudo da FAO em Produção Vegetal, 132), 2001. 216p.
- BELLORA, R.M., *et al.* Transtornos de Ansiedade em Idosos: Prevalência, perfil e fatores associados em um ambulatório de Psiquiatria Geriátrica de Porto Alegre, Brasil. **PAJAR - Pan-American Journal of Aging Research**, v.9, n. 1, p.1-9, 2021.
- BENZIER, J.J. *et al.* The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BEZERRA, J.A.; BRITO, M.M. Nutricional and antioxidant potencial of unconventional food plants and their use in food: Review. **Research, Society and Development**, v.9, n.9, 2020.

BIONDO, E., *et al.* Diversidade e potencial de uso de plantas alimentícias não tradicionais no Vale do Taquari, RS. **Revista Eletrônica Científica Da UERGS**, v. 4, n.1, p. 61-90, 2018.

BORGONI, S., KSENIA, S., BRUKA, K., MAGALHÃES, P. Targeting immune dysfunction in aging. **Ageing Research Reviews**, v.70, 2021.

BORTOLUZZI, M.M.; SCHMITT, V.; MAZUR, C.E. Effect of herbal medical plants on anxiety: a brief review. **Research, Society and Development**, v.9, n.1, e02911504, 2020.

BOURIN, M. *et al.* The mouse light/dark box test. **European Journal Pharmacology**, v. 28, n. 463, p. 55-65, 2003.

BRADLEY, B. F. *et al.* Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 517-525, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Manual de hortaliças não -convencionais. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Brasília: mapa/ACS, 2010.

CHISTÉ, R, C. *et al.* Carotenoids inhibit lipid peroxidation and hemoglobin oxidation, but not the depletion of glutathione induced by ROS in human erythrocytes. **Journal Life Sciences**, v. 99, p. 52-60, 2014.

CHOI, M. *et al.* Physical activity, quality of life and successful ageing among community-dwelling older adults. **International Nursing Review**, v. 64, n.3, p.396-404, 2017.

DÍAZ, M. S.S., *et al.* *Opuntia* spp.: Characterization and Benefits in Chronic Diseases, Review Article. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2017, p. 01-17, 2017.

Diretrizes ARRIVE 2.0: **diretrizes atualizadas para relato de pesquisas com animais**. Originalmente publicado na PLOS Biology, julho de 2020.

DONLISKY, V.W. Resveratrol prevents pathological but not physiological cardiac hypertrophy. **Journal of Molecular Medicine**, v. 93, p. 413–425, 2015.

DUBEUX JUNIOR, J. C. B. *et al.* Forage potential of cacti on drylands. **Acta Horticulturae** (ISHS), v. 1, p. 181-186, 2015.

DZIECHCIAZ, M., FILIP, R. Biological psychological and social determinants of old age: bio-psycho-social aspects of human aging. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 21, n. 4, p. 835-8, 2014.

EDVAN, R. L., *et al.* Resilience of cactus pear genotypes in a tropical semi-arid region subject to climatic cultivation restriction. **Scientific Reports**, v. 10, n. 10040, 2020.

EL- HAWARY, S.*et al.* HPLC-PDA-MS/MS profiling of secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* cladode, peel and fruit pulp extracts and their antioxidant, neuroprotective effect in rats with aluminum chloride induced neurotoxicity Saudi **Journal of Biological Sciences**, v.27, n. 1, p. 2829-2838, 2020.

ERVIN, G. N. Indian fig cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) miller) in the Americas: An uncertain history. **Haseltonia**, v. 17, p. 70-81. 2012.

- ESTERBAUER, M.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonyldialdehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-421, 1990.
- FANSELOW, M. S., & Ledoux, J. E. (1999). Why we think plasticity underlying Pavlovian fear conditioning occurs in the basolateral amygdala. **Journal of Neuroscience**, v. 23, p. 229-232, 1999.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations; Food Quality and Standards service (AGNS). **Report on Functional Foods**, Nov. 2017.
- FERNANDES, C.F. **Potencial de cactáceas do Brasil como plantas alimentícias não convencionais: Revisão bibliográfica**. Monografia (Licenciatura). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Curso de Ciências Biológicas. 33f. São Roque, 2019.
- FLINT, J. Animal models of anxiety and their molecular dissection. **Seminars in Cell & Developmental Biology**. v. 14, p. 37-42, 2003.
- 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.
- GONÇALVES, N. G. G. *et al.* Protein fraction from *Artocarpus altilis* pulp exhibits GUSHA, J., *et al.* The effect of *Opuntia ficus indica* and forage legumes-based diets on goat productivity in smallholder sector in Zimbabwe. **Small Ruminant Research**, v. 125, p. 21-25, 2015.
- HABIBI, Y., *et al.* Morphological and structural study of seed pericarp of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 1, p. 102-112. 2008.
- HORWITZ, W. **Métodos oficiais de análise da Associação de Químicos Analíticos Oficiais**. 18ª ed. AOAC, Gaithersburg, MD 2005; 97 – 98.
- HOU, Y. *et al.* Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. **Nature Reviews Neurology**, v.15, p. 565–581, 2019.
- JACOB, M. C. M. Biodiversity of unconventional food plants in a community garden for educational purposes. **Demetra**. v.15, p.1-17, 2020.
- KASOT, D.M. *et al.* Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. **International Journal of Biological Sciences**, v. 11, n.8, p. 982-991, 2015. 2015;
- KELEN, M. E. B., *et al.* (2015). Plantas alimentícias não convencionais (PANCs): hortaliças espontâneas e nativas. UFRGS - Porto Alegre.
- KRIS-ETHERTON, O.M. *et al.* Nutrition and behavioral health disorders: depression and anxiety. **Nutrition Reviews**, v.79, p. 247-260, 2021.
- LIBERATO, P.S.; LIMA, D.V.; SILVA, G.M.B. PANCs - Non-Conventional food plants and their nutritional benefits. **Environ. Smoke**, v.2, n.2,2019.
- LIU, M. *et al.* Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Food. Chem. v. 50, p. 2926–2930, 2002.

LOPES, K, C. S.P.; SANTOS, W.L. Transtorno de ansiedade. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v. 1, n.1, p. 45-50,2018.

**Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais** [recurso eletrônico]: DSM-5 / [American Psychiatric Association; tradução: Maria Inês Corrêa Nascimento ... et al.]; Revisão Técnica: Aristides Volpato Cordioli ... [et al.]. – 5. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Artmed, 2014.

MARTIN, C. A. *et al.* Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n.6, 2006.

MARX, W. *et al.* Diet and depression: exploring the biological mechanisms of action *Mol. Psychiatry*, v. 26, p. 134-150, 2021.

MOURA-FÉ, C.R., BORGES, G.R.S., SOUSA, P.S.S., & CARMO, M.D.S. Uso das cactáceas na alimentação animal e humana no Brasil e no mundo. **Ciências e Inovação: Tecnologias Sustentáveis para Preservação do Meio Ambiente**. v. 2, n. 1. p. 174-176. 2013.

NAVA-MESA, M. O., LAMPREA, M. R., MÚNERA, A. Divergent short-and long-term effects of acute stress in object recognition memory are mediated by endogenous opioid system activation. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 106, p. 185-192, 2013.

NAYAK, S.N. Omics Technologies to Enhance Plant Based Functional Foods: An Overview. **Journal Frontiers in Genetics**, v. 12, 2021.

NEHA, K. Medicinal prospects of antioxidants: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.360, n.1, p. 201-205, 2019.

NUNES, C.S. Usos e aplicações da Palma Forrageira como uma grande fonte de economia para o semiárido nordestino. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 1, p. 58-66, Jan/Mar. 2011.

NUNES, R.,*et al.* Assessing global changing food patterns: A country-level analysis on the consumption of food products with health and wellness claims. **Journal of Cleaner Production**, v. 264, p. 121613, 2020.

OLIVEIRA, D.V., ANTUNES, M.D., OLIVEIRA, J.F. Anxiety and its relationship with quality of life In elderly: narrative review. **Cinergis**, v. 18, n. 4, p. 316-322, 2017.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. [ONU]. Transformando nosso mundo. Recuperado de: Acesso em 09.jun.2017.

OROSZI, T. *et al.* Whole Body Vibration Improves Spatial Memory, Anxiety-Like Behavior, and Motor Performance in Aged Male and Female Rats. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 13, 2022.

PARTTRIDGE, L., DEELEN, J.; SLAGBOOM, P.E. Facing up to the global challenges of ageing. **Nature**, v. 561, p. 45–56, 2018.

PISOSCHI, *et al.* Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 36, 2016.

PROSKY, *et al.* Determination of total dietary fiber in foods and food products: a collaborative study. **Journal Associação Desligado**. Anal. Chem, v. 68, p. 677-679, 1985.

PRUT, L., BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, p. 3-33, 2003.

PYO, S. *et al.* Mechanisms of Aging and the Preventive Effects of Resveratrol on Age-Related Diseases. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 4649, 2020.

QUEIROZ, E. R. **Frações de lichia: caracterização química e avaliação de compostos bioativos**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

REEVES, P.G., NIELSEN, F.H., FAHEY, G.C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of Nutrition**, v.123, n.11, p. 1939–1951,1993.

RIBEIRO, T. P. S., & Durigan, M. F. B. Produtos alimentícios à base de cubiu (*Solanum sessiliflorum* dunal) como oportunidade para a agroindústria. **Revista Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**. v.11, n.1, p.1-5, 2018.

ROCKENBACH, I.I. *et al.* Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*vitis vinifera* L. and *vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**. v. 127, p. 174-179, 2011.

SALEM, N. Jr. *et al.* Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. **An authoritative review of the important role of the essential fatty acid DHA in neural systems**. v. 36, p. 945-959, 2001.

SALIM, S. Oxidative Stress and the Central Nervous System. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 360, n.1, p. 201-205, 2017.

SANTANA, G.S., SILVA, A.M. **O uso de plantas medicinais no tratamento da ansiedade**. III SIMPÓSIO DE ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA. Centro Universitário São Camilo, 2015.

SANTIAGO, Elsy; DOMINGUEZ, Maite; CID, Conchita; PEÑA, Maria-Paz; Impact of cooking process on nutritional composition and antioxidants of cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v. 240, p. 1055-1062, 2018.

SANTOS, D. C., *et al.* Estratégias de uso de cactáceas no semiárido: novas cultivares e uso sustentável de espécies nativas. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 111-121, 2013.

SANTOS, L.S. *et al.* The effects of physical activity on anxiety, depression, and quality of life in elderly people living in the Community. **Trends Psychiatry Psychother**, v. 41 n. 1, 2019.

SARIBURUN, E. *et al.* Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. **Journal of food Science**, v. 75, n. 4, p. 328-325, 2010.

SHAN, Q. *et al.* Purple sweet potato color ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative damage and inflammation in aging mouse brain induced by D-galactose. **Journal of biomedicine and biotechnology**, v. 2009.

SILVA, C.R.D.T. *et al.* Promoção da saúde de idosos frágeis e em risco de fragilidade. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 72, n. 2, 2019.

SILVA, M. A. M. *et al.* Effect of wheat and oat bran fibers on the Lipid profile in the blood of rats (*rattus norvegicus*) wistar. **Science and Agrotechnology**. v .27, n.6, p.1321-1329, 2003.

SILVA, M.A., *et al.* Opuntia ficus-indica (L.) Mill.: A Multi-Benefit Potential to Be Exploited. **Molecules**, v. 26, n.4, 2021.

SINGH, S. K. *et al.* Neuroprotective and Antioxidant Effect of Ginkgo biloba Extract Against AD and Other Neurological Disorders. **Neuroterapêutica**, v. 16, n.1, p. 666-674, 2019.

SKYBOVÁ, D., ŠLACHTOVÁ, H., TOMÁŠKOVÁ, H., DALECKÁ, A., MAŘAR, R. Risk of chronic diseases limiting longevity and healthy aging by lifestyle and socio-economic factors during the life-course – a narrative review. **Medycyna Pracy**, v. 75, n. 5, P. 535-548, 2021.

SUBRAMANYAM A.A, *et al.* Clinical practice guidelines for Geriatric Anxiety Disorders. **Indian Journal of Psychiatry**.v. 60, n.3, p. 371-382,2018.

TURECK, C. *et al.* A. Avaliação da ingestão de nutrientes antioxidantes pela população brasileira e sua relação com o estado nutricional. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, n. 1p. 30-42, 2017.

UNUOFIN, J.O., LEBELO, S.L. Antioxidant Effects and Mechanisms of Medicinal Plants and Their Bioactive Compounds for the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes: An Updated Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 36, 2020.

VASCONCELOS, *et al.* Antioxidantes e radicais livres: perigo ou proteção? **Unopar científica: ciências biológicas e da saúde**, v. 16, n. 3, p. 213-9, 2014.

VAVÁKOVÁ, M., ĎURAČKOVÁ, Z., TREBATICÁ, J. Marcadores de estresse oxidativo e neuroprogressão no transtorno depressivo. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2015, p. 12, 2015.

VICTOR, M.M., UCHÔA, J.E., & RIATTO, V.B. First use of cactus and cushcush as biocatalysts in the enantioselective reduction of B-keto esters. **Industrial Crops and Products**, v. 96, p.126-131, 2017.

VIN. K. D. *et al.* Onset of anxiety and depression in the elderly population: comparison of risk factors in a 9-year prospective study. **Journal Geriatr Psychiatry**, v. 17, n.8, p.642–652, 2009.

WAGNER, K.H. *et al.* Biomarkers of Aging: From Function to Molecular Biology. **Nutrients** v. 8, n. 6, p. 338, 2016.

WANG, H. *et al.* Protective role of antioxidant supplementation for depression and anxiety: A meta-analysis of randomized clinical trials. **Journal of Affective Disorders**, v. 323, p. 264-279, 2022.

WINTER, G.G. *et al.* Aging as Disease. **Medicine, Health Care and Philosophy**, v.18, p. 237–243, 2015.

ZAPPI, D.C.; TAYLOR, N.P. & LAROCCA, J. 2012. **A riqueza das Cactaceae no Brasil.**: Ribeiro-Silva, S.; Zappi, D.C.; Taylor, N.P. & Machado, M.C. (eds.) Plano de ação nacional para a conservação das cactáceas. ICMBio, Brasília. p.15-26.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, WU. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p.555-559, 1999.

## 4 RESULTADOS

Os resultados estão apresentados como artigo científico e será submetido de acordo com as normas da revista.

Artigo I

**Título: A FARINHA DA PALMA (*Opuntia ficus-indica*) REDUZ A PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA CEREBRAL E COMPORTAMENTO DO TIPO ANSIOSO EM RATOS WISTAR IDOSOS**

## A FARINHA DA PALMA (*Opuntia ficus-indica*) REDUZ A PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA CEREBRAL E COMPORTAMENTO DO TIPO ANSIOSO EM RATOS WISTAR IDOSOS

### RESUMO

Objetivou-se com a presente pesquisa avaliar o efeito da farinha de palma sobre o comportamento do tipo ansioso e peroxidação lipídica cerebral em ratos idosos. Os animais foram divididos em quatro grupos (n=10): controle (GC) – recebeu a ração AIN-93M, P5%, P10% e P15%, tratados com a ração da AIN-93M com adição de 5, 10 e 15% da farinha de palma respectivamente. No labirinto em cruz elevado (EPM) os grupos P5%, P10% e P15% permaneceram mais tempo nos braços abertos, P15% permaneceu mais tempo nessa região e menos tempo nos braços fechados. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos quanto o tempo de permanência dos animais no centro do aparato. P5%, P10% e P15% realizaram um maior número de mergulho de cabeça. Com relação ao campo aberto os animais P5%, P10% e P15% realizaram um maior número de rearing e permaneceram por mais tempo no centro do aparato, sendo P15% o grupo que permaneceu por mais tempo, quando comparado aos demais grupos. Não houve diferença na locomoção e grooming. Quanto a caixa claro-escuro, P15% permaneceu por mais tempo na parte clara, menos tempo na parte escura e realizou um menor número de transições. P5%, P10% e P15% apresentaram as concentrações mais baixas de peroxidação lipídica cerebral. Nossos dados demonstraram que o consumo da farinha de palma por ratos promoveu efeitos ansiolíticos e minimizou a peroxidação lipídica cerebral no envelhecimento. Diante do exposto, pode-se deduzir que a palma forrageira pode contribuir para prevenção e/ou tratamento da ansiedade na fase de envelhecimento.

**Palavras-chave:** ansiedade; compostos bioativos; estresse oxidativo; envelhecimento.

### INTRODUÇÃO

O aumento do tempo de vida é um fator que alcança o mundo inteiro, nos últimos anos ocorreu um aumento populacional de idosos em ritmo elevado (CHOI *et al.*, 2017). Esse envelhecimento está associado com a incidência de condições patológicas associadas ao sistema nervoso central (SNC), como por exemplo, diminuição do volume cerebral, velocidade do fluxo sanguíneo e aumento da neurodegeneração. A fase idosa está associada com o declínio progressivo das funções, o que pode resultar em níveis aumentados de ansiedade e depressão (VINK *et al.*, 2009; SUBRAMANYAM *et al.*, 2018; OROSZI *et al.*, 2022).

A ansiedade é considerada um fator natural, ligada a proteção e adaptação, tonando-se patológica quando atinge uma esfera generalizada, de acordo com o Manual

Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5). O tratamento em idosos é feito na maioria das vezes por meio de medicamentos psicotrópicos (BELLORA *et al.*, 2021). Evidências apontam que o consumo de alimentos ricos em compostos bioativos podem atuar na prevenção e/ou tratamento da ansiedade (WANG *et al.*, 2022).

As plantas alimentícias não convencionais (PANC), são boa fonte de compostos antioxidantes e nutrientes essenciais, sendo consideradas excelente fonte alimentar, tanto pelo conteúdo nutricional que apresentam, quanto pelo seu potencial funcional (LIBERATO *et al.*, 2019).

Dentre as PANC, destaca-se a palma (*Opuntia ficus-indica*), cactácea com alto teor de polifenóis, propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Os cactos são excelentes opções para o desenvolvimento de alimentos nutracêuticos e de propriedades funcionais, tendo em vista que são fonte de substâncias bioativas e de antioxidantes dietéticos promotores de saúde (ALBANO *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2021).

Os compostos bioativos com potencial antioxidante, presentes na palma, atuam na preservação de estruturas do SNC contra os efeitos deletérios dos radicais livres (RL) (CHISTÉ *et al.*, 2014), além de contribuir para a neogênese adequada e prevenção de distúrbios neuropsiquiátricos, a exemplo da ansiedade (SALEM *et al.*, 2001). Estudos *in vivo* desenvolvidos com ratos em fase idosa demonstram impacto positivo do consumo de alimentos antioxidantes na redução de parâmetros oxidativos no tecido cerebral, comportamento do tipo ansioso e depressivos (QUEIROZ *et al.*, 2012).

Baseado no exposto, hipotetizamos que o consumo da palma pode atenuar os processos neurodegenerativos associados a doenças neuropsiquiátricas, como ansiedade e depressão. Sendo assim, objetivamos com este trabalho avaliar o efeito da palma (*Opuntia ficus-indica*) sobre parâmetros oxidativos no tecido cerebral e comportamento tipo ansioso em ratos *Wistar* idosos.

## **ABORDAGEM METODOLÓGICA**

### **OBTENÇÃO DA PALMA E PREPARO DA RAÇÃO**

A palma (*Opuntia ficus-indica*,) utilizada neste estudo foi fornecida pela Universidade Federal de Campina Grande (UFPB) - Campus de Bananeiras -PB. Os

demais ingredientes para produção da ração foram obtidos pela RHOSTER, indústria e comércio LTDA e pelo comércio local.

Após a coleta da palma, os cladódios passaram pelo processo de retirada dos espinhos e logo em seguida foram cortados em fatias de 1cm, e posteriormente higienizados com solução clorada a 200ppm. Após esse processo, as fatias dos cladódios da palma foram distribuídas em bandejas de aço inox e, em seguida, postas em estufa de circulação de ar forçado (Biopar, modelo S480 AD, Porto Alegre – RS, Brasil) a uma temperatura de  $50 \pm 1$  °C por 48 horas. Após a secagem, o material foi triturado em liquidificador (Philco, modelo LQ PH900 PR, Brasil) e peneirado utilizando uma tela de 0,5 mm, para obtenção de uma farinha fina com granulometria uniforme. Em seguida, a farinha foi pesada, embalada e armazenada em temperatura ambiente a  $23 \pm 1$  °C, até o momento de realizar as análises e elaborar a ração.

A ração foi elaborada com base nas diretrizes da AIN-93M (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) dietas experimentais 5, 10 e 15% da farinha de palma. Os ingredientes utilizados para a elaboração da ração estão descritos na tabela 1.

Para a produção da ração todos os ingredientes foram pesados e posteriormente misturados, a mistura foi peneirada e depois acrescentada 40 ml de óleo de soja, novamente foi misturada e peneirada. Após esse procedimento foi adicionado água morna, até a massa ficar sorvada, depois a massa foi colocada em bandejas de alumínio e espalhada com um rolo, logo em seguida cortada em cubos com o auxílio de uma faca de ponta e levada para estufa por vinte e quatro horas, após esse período a ração foi retirada da estufa e colocada em temperatura ambiente durante uma hora, após o resfriamento foi desenhada e embalada em saco plástico, ficando armazenada sobre refrigeração.

**Tabela 1** – Composição das dietas experimentais.

<b>Ingredientes (g/kg)</b>	<b>Controle</b>	<b>Palma 5%</b>	<b>Palma 10%</b>	<b>Palma15%</b>
Amido	620,692	570,692	520,692	470,692
Caseína	140,00	140,00	140,00	140,00
Sararose	100,00	100,00	100,00	100,00
Óleo de soja	40,00	40,00	40,00	40,00
Celulose	50,00	50,00	50,00	50,00
Farinha Palma	-	50,00	100,00	150,00

Minerais	35,00	35,00	35,00	35,00
Vitaminas	10,00	10,00	10,00	10,00
Metionina	1,800	1,800	1,800	1,800
Bitartarato de Colina	2,500	2,500	2,500	2,500
Tetrabutyl Hidroquinona	0,008	0,008	0,008	0,008
<b>TOTAL</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>	<b>1000,00</b>

Foi adicionado água morna até a ração obter o ponto de homogeneização.

**Fonte:** Próprio autor 2022.

## **ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E PERCENTUAL DE FIBRAS DA FARINHA DE PALMA**

A farinha de palma foi submetida as análises físico-químicas por triplicata. O teor de cinzas foi obtido por incineração em forno mufla (JUNG, modelo 0612, Blumenau - SP, Brasil) estabilizado a 550 °C. Os lipídeos foram determinados pelo método de Folch, Less e Sloane-Stanley (1957). Os Carboidratos foram determinados considerando a soma de proteínas, lipídeos, cinzas e umidade menos 100, considerando 100g da amostra. Para a aferição de fibras totais, solúveis e insolúveis foi utilizado o método enzimático-gravimétrico (HORWITZ *et al.*, 2005; PROSKY *et al.*, 1995).

## **CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA FARINHA DE PALMA**

A determinação do teor de polifenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante *in vitro* (FRAP e ABTS), foram realizadas em triplicata por meio da extração dos constituintes bioativos. O extrato foi utilizado para todos os ensaios. A extração foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Silva *et al.* (2021), com modificações. Inicialmente, foram pesados 1 g da farinha da palma em um tubo Falcon e adicionaram-se 10 mL de álcool etílico a 80%. Em seguida, o tubo com a mistura foi agitado em vórtex (Logen Scientific, modelo LSM56-II-VM, Fortaleza/Ceará, Brasil) por 60 segundos e, posteriormente, deixado em repouso na ausência da luz em temperatura ambiente (23 ±1 °C) por 24 horas. Na sequência, a mistura foi filtrada em papel filtro Whatman, de 125

mm, sendo o volume completado para 10 mL com o solvente de extração. O extrato foi recolhido em frasco âmbar e armazenado em freezer a -18 °C até o momento das análises.

### **Determinação dos compostos fenólicos totais**

Para determinação do teor de compostos fenólicos totais da farinha de palma, foi utilizada a metodologia descrita por Liu et al. (2002) com ~~algumas~~ modificações. No tubo de ensaio foi misturado 250 µL de cada amostra com 1250 µL do reagente Folin-Ciocalteu à 10%, as soluções foram agitadas em vórtex e armazenadas em temperatura ambiente (23°C) na ausência da luz por 6 minutos. Logo em seguida, foram adicionados 1000 µL da solução de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi levada ao Banho Maria Termostático (SL 150, SOLAB, Piracicaba – São Paulo, Brasil), a uma temperatura de 50°C, durante 5 minutos. Após, a absorbância foi medida a 765 nm utilizando espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Os compostos fenólicos totais foram determinados através de uma curva padrão. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 gramas de amostra (mg EAG/100 g).

### **Determinação dos flavonoides totais**

O teor de flavonóides totais foi determinado com base na metodologia de Zhishen; Mengcheng; Jianming (1999). Para obtenção do teor de flavonoides totais foi utilizado uma curva padrão de equivalentes de catequina. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de catequina por 100 gramas de amostra (mg EC/100 g).

### **Atividade antioxidante – método FRAP**

A atividade antioxidante foi realizada conforme a metodologia descrita por Benzie e Strain (1996), adaptada por Rockenbach et al. (2011). A absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 593 nm. Para obtenção do resultado da atividade antioxidante (FRAP) foi utilizada a curva de calibração com Trolox e os resultados foram expressos em µmol de trolox/g de amostra.

### **Atividade antioxidante – método ABTS●+**

Para realização do método ABTS utilizou-se a metodologia descrita por Sariburun et al. (2010), com algumas modificações. Inicialmente, formou o radical ABTS, o qual foi diluído em água destilada até obter o valor de absorvância de 0,800 ( $\pm 0,020$ ) a 734 nm. Logo em seguida, foram preparadas quatro diferentes diluições, em triplicata. Em ambiente escuro, uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  dos extratos foi transferida para um tubo, e 500  $\mu\text{L}$  do radical ABTS foram adicionados. Posteriormente, os tubos de ensaio foram mantidos na ausência de luz por 6 min e a leitura foi feita a 734 nm em espectrofotômetro (BEL Fotônica). Como referência, Trolox foi usado e os resultados expressos em  $\mu\text{M}$  trolox /g de amostra.

## **PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS**

### **Animais e dietas experimentais**

Foram utilizados 40 ratos machos, idosos, com idade de 18 meses, da linhagem *Wistar*, os quais ficaram alojados em gaiolas individuais de polipropileno em condições padrão do (temperatura  $22 \pm 1$  °C, umidade  $65 \pm 5\%$ , ciclo claro/escuro de 12/12 – luz artificial das 6:00 as 18:00h).

Os animais foram randomizados em quatro grupos (n=10): Controle (GC) – receberam ração AIN-93M; Palma 5% (P5%) – receberam ração AIN-93M adicionada de 5% da farinha de palma; Palma 10% (P10%) – receberam ração AIN-93M adicionada de 10% da farinha de palma; e Palma 15% (P15%) – receberam ração AIN-93M adicionada de 15% da farinha de palma. Os animais receberam ração por quatro semanas, sendo ofertado 30g/dia e água *ad libitum*.

O cálculo das dietas experimentais foi baseado no estudo de Silva et al., (2003) que trataram ratos machos, da linhagem *Wistar* adultos com a ração da AIN-93M com adição de 5, 10 e 15% do farelo de trigo e de aveia, fonte de fibras e compostos bioativos. O consumo de 30g/dia foi baseado de acordo com a metodologia de Andriguetto, (2002), descrita no livro *Nutrição Animal: As bases e os fundamentos da nutrição animal*, que estima o consumo habitual médio de 30g de ração por dia, para ratos de laboratório. Com relação a duração do tratamento, esta foi definida com base no estudo de Shan et al.,

(2009) que observaram o efeito da batata-doce roxa (fonte de antioxidante) em ratos machos idosos alimentados por 4 semanas.

Todos os métodos experimentais foram realizados em atendimento às normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONSEA, Brasil) por meio da lei n. 11.794/2008 (Lei Arouca) e com as diretrizes de Pesquisa Animal: Relatos de Experimentos In Vivo (ARRIVE) 2.0 para experimentos in vivo com animais.

## **TESTES COMPORTAMENTAIS**

Após o período de tratamento com a ração AIN-93 adicionada de diferentes concentrações da farinha de palma, os animais foram submetidos a testes de avaliação do comportamento do tipo ansioso. Para a avaliação do comportamento tipo ansioso foram realizados os testes de CA, LCE, CCE.

### **Teste do Campo Aberto (CA)**

O Campo Aberto consiste em uma caixa quadrada preta uniformemente iluminado, medindo 60 x 60 x 60 cm, sendo subdividida em 9 quadrantes medindo 20x20 cm (NAVA-MESA; LAMPREA; MÚNERA, 2013). O aparato do campo aberto é utilizado com o objetivo de avaliar o comportamento de atividade de ansiedade e atividade exploratória, com o objetivo de verificar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em ratos (PRUT; BELZUNG, 2003).

Após a finalização do tratamento com a ração a base da farinha de palma, os animais (individualmente) foram inseridos no centro do aparato e observados durante 10 minutos. Foram analisados os seguintes parâmetros: ambulação (número de cruzamentos dos segmentos pelo animal com as quatro patas), número de comportamentos de levantar (rearing), tempo de comportamentos de autolimpeza (grooming).

### **Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)**

O LCE é constituído por dois braços fechado medindo 50 cm x 10 cm cada e dois braços abertos medindo 50 cm x 10 cm cada, perpendiculares aos primeiros; uma área

central de 10 cm x 10 cm, sendo este elevado 50 cm do solo (Figura 7). O teste do LCE é utilizado para avaliar os parâmetros de ansiedade em roedores (FLINT, 2003; BRADLEY *et al.*, 2007).

Todos os grupos experimentais foram submetidos a esse teste, o animal foi colocado no centro do aparelho, sempre pelo mesmo pesquisador, com o focinho voltado para o braço fechado direito. Foram analisados os seguintes parâmetros: tempo de permanência dos animais nos braços abertos, fechados e no centro do aparato, bem como, número de mergulhos de cabeças pelos braços abertos, realizados pelos animais. O teste teve duração de 5 minutos.

### **Teste da Caixa Claro-Escuro (CE)**

A caixa claro-escuro consiste em uma caixa de acrílico (45 X 27 X 27cm), dividida em dois compartimentos, sendo um escuro (18 X 27cm) e outro claro (27 X 27cm). Esse aparato é utilizado para medir a ansiedade incondicionada e comportamento exploratório em roedores (BOURIN; HASCOËT, 2003).

Os animais foram colocados no centro do compartimento claro, com o focinho voltado para o compartimento escuro. Durante esse teste foram analisados: tempo de permanência do animal em cada um dos compartimentos e o número de cruzamentos que o animal faz pela porta. O teste da caixa claro-escuro teve duração de 5 minutos.

Ao finalizar as sessões, entre um animal e outros, os aparelhos foram higienizados com uma solução de álcool a 10%. Todas as sessões foram filmadas com uma câmera de vídeo a qual foi instalada no teto do laboratório. Posteriormente os vídeos foram analisados.

### **Eutanásia**

Ao término do experimento, os animais foram submetidos a 8 horas de jejum e, em seguida, anestesiados com Cloridrato de Ketamina (50mg/kg de peso do animal) e Xilasina (20mg/kg de peso do animal). O tecido cerebral foi removido por inteiro e após a coleta houve a separação dos hemisférios através de um corte longitudinal no sentido ântero-posterior. Para análise do conteúdo de malonaldeído (MDA), o hemisfério direito foi fatiado em três tiras, com utilização de uma lâmina de bisturi. Todo o procedimento foi realizado sob uma superfície de gelo e em seguida mantidos em freezer a -80° C até o momento da análise.

### **Determinação do estresse oxidativo – Malondialdeído (MDA)**

Para realização da análise de MDA, utilizou-se a metodologia de Esterbauer; Cheeseman, (1990). A amostra do tecido cerebral foi descongelada e, posteriormente pesada. Após isso, foi calculada a quantidade de tampão (Tris HCL) para amostra, utilizando sempre a proporção de 1:5 (p/v). Em seguida, o tecido foi picado com uma tesoura por aproximadamente 15 segundos em meio resfriado, o material fragmentado foi triturado e homogeneizado em temperatura fria, sob ação de um triturador (Ultra Stirrer modelo: Ultra 80), e a ele adicionado o tampão Tris HCl. O conteúdo homogeneizado foi centrifugado em uma Centrífuga de Bancada refrigerada – SL 701, marca SOLAB, Piracicaba-São Paulo, Brasil, a 2500 *xg* por 10 minutos a 4 °C e 300 µL, o sobrenadante foi transferido para um microtubo de 2ml, e adicionados 750 µL do reativo cromogênico e 225 µL de ácido clorídrico (HCl – 37%). O material foi colocado em Banho Maria Termostático SL 150, marca SOLAB, Piracicaba – São Paulo, Brasil com agitação a 45° C, durante 40 minutos, e posteriormente levado à uma centrifugação a 2500 *xg* durante 5 minutos a 4 °C. Em seguida, foi transferido 300 µL do sobrenadante para microplaca de 96 poços, em duplicata, e levado para leitor de microplacas (Polaris) 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 mol/g tecido.

### **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram analisados mediante a utilização do programa software Sigma Star (versão 3.0) para realização do teste One Way ANOVA, seguindo do teste de Holm-Sidak para comparação entre os grupos experimentais. Os resultados foram expressos com média ± SEM. As diferenças estáticas significativas foram consideradas quando  $p < 0.05$ .

### **RESULTADOS**

### **ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E PERCENTUAL DE FIBRAS DA FARINHA DE PALMA**

De acordo com os resultados obtidos a farinha de palma apresentou alto teor de carboidrato (g/100g)  $66,44 \pm 0,0$ , sendo grande parte deste conteúdo composto por fibras insolúveis (g/100g)  $30,03 \pm 0,02$  e fibras solúveis (g/100g)  $11,90 \pm 0,00$ . Quanto aos teores de cinzas (g/100g), lipídios (g/100g) e proteínas (%) foram verificados valores de  $16,18 \pm 0,09$ ;  $1,44 \pm 0,05$ ; e  $7,27 \pm 0,09$ , respectivamente. Também foram verificados teores significativos de fenólicos e flavonoides totais e alta atividade antioxidante, como demonstrado na tabela 2.

**Tabela 2.** Composição físico-química, teor de fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante da farinha de palma (*Opuntia ficus-indica*).

Parâmetros	Farinha de Palma
Fenólicos totais (mg AGE/100g)	$568,21 \pm 0,02$
Flavonóides totais (mg CE/100g)	$134,76 \pm 0,03$
FRAP ( $\mu\text{mol TEAC}/100\text{g}$ )	$51,73 \pm 0,09$
ABTS ( $\mu\text{mol TEAC}/100\text{g}$ )	$99,45 \pm 0,00$

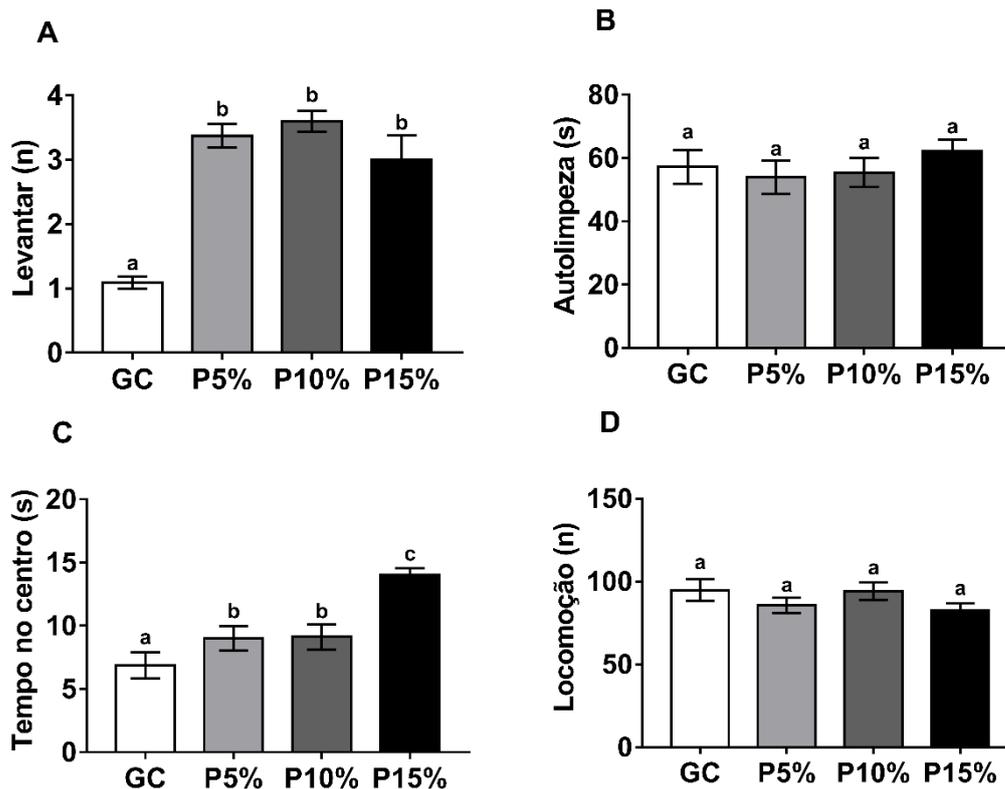
Os valores são expressos em média e desvio padrão

## TESTES COMPORTAMENTAIS

### Campo aberto

Houve maior número do comportamento de levantar nos animais pertencentes aos grupos P5%, P10% e P15% em relação aos animais do grupo controle (Figura 1A) ( $p < 0,05$ ). Os grupos não difeririam estatisticamente entre si com relação ao comportamento de autolimpeza e a locomoção (Figura 1B e 1D). Observou-se diferença significativa no tempo de permanência dos animais dos grupos experimentais no centro do aparato quando comparados ao grupo controle. ( $p < 0,05$ ). Ao avaliarmos apenas os grupos experimentais, observou-se maior tempo de permanência do grupo P15% quando comparado ao P10% e P5% (Figura 1C).

**Figura 1:** Teste de campo aberto realizado em ratos idosos tratados com 5, 10 e 15% da farinha de palma.



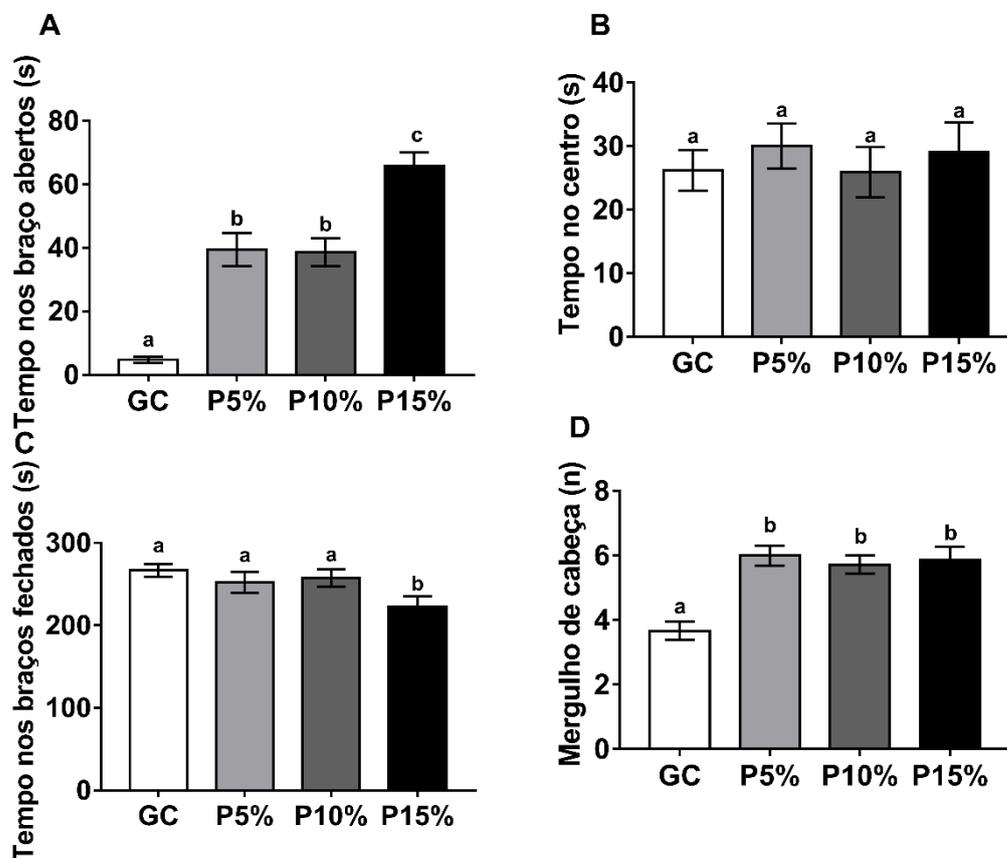
Controle (CG = 10); Farinha de palma 5% (P5% = 10); Farinha de palma 10% (P10% = 10); Farinha de palma 15% (P15% = 10). A = Levantar; B = Autolimpeza; C = Tempo no centro; D = Locomoção. Valores expressos em média e erro padrão (One-way ANOVA, Holm-Sidak); Letras diferentes entre as barras significam diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

## LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

Ao avaliarmos o tempo de permanência dos animais nos braços abertos do aparato, pode-se observar diferença significativa entre os animais dos grupos P5% e P10% e P15% em relação ao grupo controle. Ao observamos apenas os grupos experimentais, foi possível verificar maior tempo de permanência do grupo P15% comparado aos grupos P5% e P10% ( $p < 0,05$ ) (Figura 2A). Com relação ao tempo de permanência dos animais no centro do aparato, não se observou diferenças significativas entre os grupos (Figura 2B).

O grupo P15% permaneceu menos tempo nos braços fechados quando comparado aos demais grupos (Figura 2C) ( $p < 0,05$ ). Quanto ao número de mergulho de cabeça realizado pelos animais, observou-se diferença significativa entre os grupos experimentais comparados ao controle (Figura 2D) ( $p < 0,05$ ).

**Figura 2:** Teste de Labirinto em Cruz Elevado realizado em ratos idosos tratados com 5, 10 e 15% da farinha de palma.

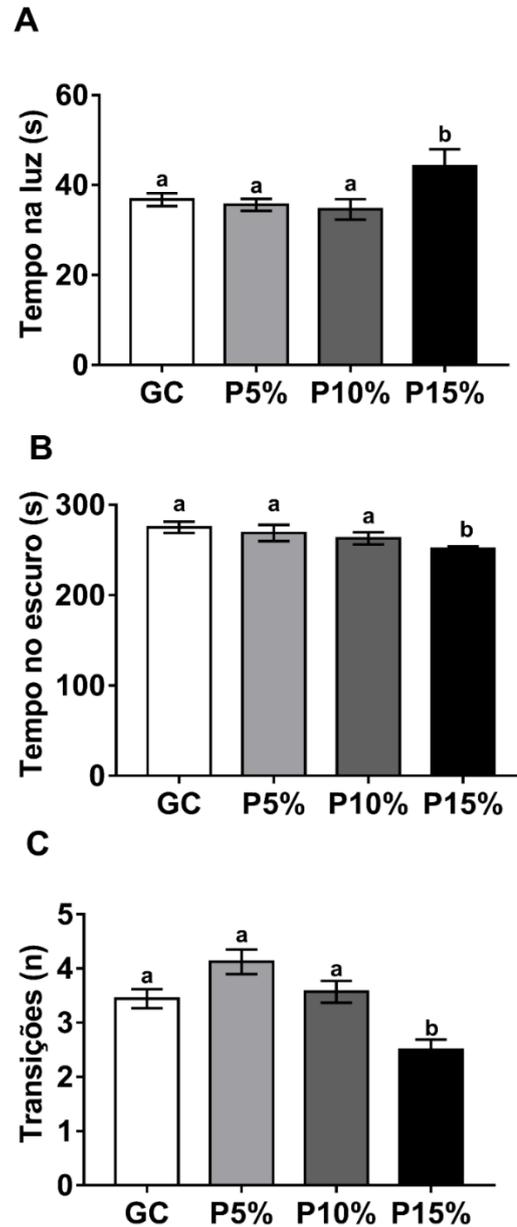


Controle (CG = 10); Farinha de palma 5% (P5% = 10); Farinha de palma 10% (P10% = 10); Farinha de palma 15% (P15% = 10). A = Tempo de permanência nos braços abertos; B = Tempo de permanência no centro; C = Tempo de permanência nos braços fechados; D = Número de mergulho de cabeça. Valores expressos em média e erro padrão (One-way ANOVA, Holm-Sidak); Letras diferentes entre as barras significam diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

### CAIXA CLARO-ESCURO

Ao avaliarmos os resultados, pode-se observar maior tempo de permanências dos animais do grupo P15% no compartimento claro da caixa e menor tempo no compartimento escuro, além de menor número de transição quando comparados aos demais grupos ( $p < 0,05$ ) (Figura 3A).

**Figura 3:** Teste da Caixa Claro-escuro realizado em ratos idosos tratados com 5, 10 e 15% da farinha de palma.



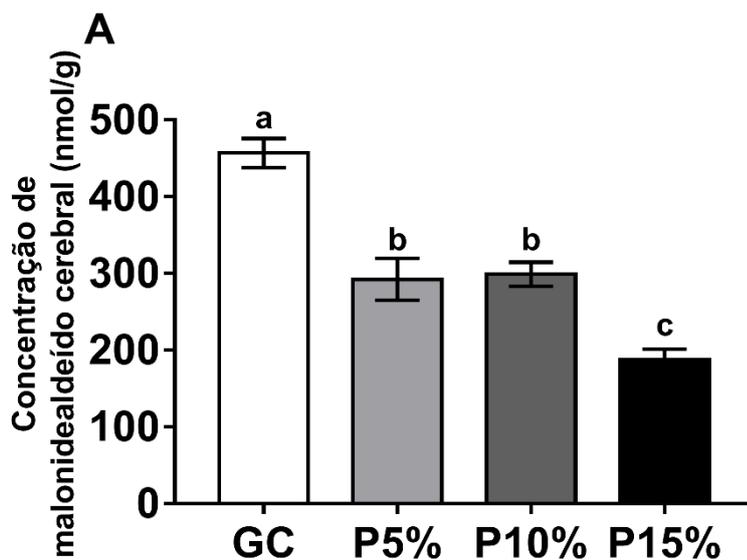
Controle (CG = 10); Farinha de palma 5% (P5% = 10); Farinha de palma 10% (P10% = 10); Farinha de palma 15% (P15% = 10). A = Tempo de permanência na parte clara; B = Tempo de permanência a parte escura; C = Transição. Valores expressos em média e erro padrão (One-way ANOVA, Holm-Sidak); Letras diferentes entre as barras significam diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

## DETERMINAÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA CEREBRAL-MALONALDEÍDO (MDA)

No que diz respeito as concentrações de malonaldeído no cérebro, observou-se que os grupos P5% e P10% apresentaram uma menor concentração de MDA quando

comparados ao grupo controle (Figura 4A) ( $p < 0,05$ ). Já o grupo P15% apresentou menor indicador de peroxidação lipídica cerebral comparado a todos os grupos ( $p < 0,05$ ).

**Figura 4** – Concentração de malonaldeído (MDA) no tecido cerebral de ratos idosos tratados com 5, 10 e 15% da farinha de palma.



Controle (CG = 10); Farinha de palma 5% (P5% = 10); Farinha de palma 10% (P10% = 10); Farinha de palma 15% (P15% = 10). A = Cérebro. Valores expressos em média e erro padrão (One-way ANOVA, Holm-Sidak); Letras diferentes entre as barras significam diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, ratos idosos foram tratados com diferentes concentrações de farinha de palma. Nossos resultados demonstraram que o consumo desta cactácea induziu um comportamento ansiolítico, além de redução da peroxidação lipídica no tecido cerebral. Para aferir a ansiedade utilizamos os testes de Campo Aberto, Labirinto em Cruz Elevado e a Caixa Claro-Escuro.

O Campo aberto, é utilizado para avaliar o comportamento de ansiedade e atividade exploratória, com o objetivo de analisar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em ratos (PRUT; BELZUNG, 2003). O número de rearing, ou seja, a quantidade de vezes que o animal fica de pé sobre as patas traseiras, é considerado

um indicador de estresse (WALF; FRYE, 2007). A frequência de rearing é inversamente proporcional ao nível de estresse, logo, quanto mais o animal realizar esse comportamento, menor seu nível de estresse (SING *et al.*, 2017).

Os animais do grupo P5%, P10% e P15% apresentaram maior número de rearing, quando comparado ao grupo controle. O aumento do número de rearing indica um comportamento do tipo ansiolítico, tendo em vista que esse parâmetro indicou uma maior atividade exploratória (BROWM *et al.*, 1999). Resultado semelhante foi encontrado por Shan *et al.* (2009), que avaliaram o efeito dos compostos antioxidantes presentes na batata doce roxa (fonte de antocianinas), sobre o comportamento de ansiedade em ratos idosos. Sing, *et al.* (2017), ao avaliarem o efeito da suplementação com pó de folha seca de *W.somnifera* e pó de caule seco de *T. cordifoliapara*, em ratos idosos, observaram maior número de rearing e redução de outros parâmetros de ansiedade, a exemplo da redução do grooming.

Não se observou diferença significativa para os parâmetros de grooming e exploração no CA. Resultados opostos foram observados nos estudos de Sing *et al.* (2017), que investigaram o efeito da suplementação com ervas ayuryédicas (*W.somnifera* e *T. cordifoliapara*) em ratos idosos, os autores encontraram um comportamento ansiolítico, por meio da redução de grooming. *W.somnifera* e *T. cordifoliapara* apresentam em sua composição compostos bioativos, os quais estão relacionados com o comportamento ansiolítico. Observamos no trabalho de Dos Santos *et al* (2019) que é possível através do tratamento com plantas fontes de compostos antioxidantes, assim como a palma, alterar o comportamento relacionado a ansiedade durante o envelhecimento. Resultados similares ao de nosso estudo foram evidenciados em pesquisa desenvolvida por Pereira (2019), ratos foram tratados com 500 mg de açaí (fonte de antocianina e composto fenólicos).

Quanto ao Teste de Labirinto em Cruz Elevado, foi observado em nosso estudo que, os animais tratados com farinha da *Opuntia ficus-indica*. permaneceram mais tempo no centro do campo, quando comparados ao grupo controle, sendo esse resultado mais intenso no grupo P15%. Animais que permanecem mais tempo no centro do campo aberto, demonstram comportamento do tipo ansiolítico. Resultado semelhante ao de nossa pesquisa foi encontrado por Patki, *et al.* (2015), que ao avaliarem o consumo do pó da uva, sobre um modelo animal idoso, observaram maior tempo de permanência dos animais no centro do campo aberto. O pó de uva é um alimento vegetal fonte de compostos antioxidantes, assim como a palma.

Outro modelo bastante utilizado para avaliar ansiedade em roedores é o labirinto em cruz elevado, este aparato é baseado na aversão do animal por locais abertos e elevados. Essa aversão está associada com o comportamento denominado de tigmotaxia, que consiste no bloqueio por áreas abertas, preferindo sempre os locais fechados ou espaços confinados (PATKI *et al.*, 2015). Os animais tratados com a farinha da palma apresentaram comportamento ansiolítico, de acordo com os parâmetros avaliados. Os grupos tratados com a palma permaneceram mais tempo nos braços abertos do aparato e realizam maior número de mergulho de cabeça. Sendo o grupo tratado com 15% da palma o que permaneceu mais tempo nos braços abertos e menos tempo nos braços fechados.

Estudo desenvolvido por Bhandari, Sunkariae, Kaur (2022), objetivando avaliar o efeito da suplementação do pó do caule de *Tinospora cardifolia*, por meio da ração sobre parâmetros de ansiedade em ratos de meia idade, verificaram maior tempo gasto pelos animais nos braços abertos do aparato, menor tempo nos braços fechados, além de maior exploração. Estes resultados estão em consonância com os resultados encontrados em nosso estudo.

Subash *et al.* (2016), também observaram efeitos ansiolíticos a partir do consumo de figos cultivados em omã em camundongos idosos, que apresentaram maior tempo de permanência nos braços abertos e redução do número de entradas nos braços fechados ao serem expostos ao LCE. Bôas *et al.* (2020), ao suplementarem ratos de meia idade com extrato do fruto de *Campomanesia pubescens* (fonte de flavonoides) observaram maior número de mergulho de cabeça, maior tempo de permanência dos animais nos braços abertos, maior número de cruzamentos entre os braços do aparato e maior tempo de permanência no centro. De acordo com os achados, matrizes vegetais ricas em compostos bioativos com atividade antioxidante protegem o sistema nervoso central contra danos neurodegenerativos modulando parâmetros de ansiedade em roedores na fase idosa.

Uma outra forma para mensurar os níveis de ansiedade é através do teste da Caixa Claro-escuro, que tem como objetivo principal avaliar a aversão do animal a ambientes claros, de modo que, quanto maior o tempo de exposição do animal neste compartimento menor o nível de ansiedade (MOHALE *et al.*, 2016). Na presente pesquisa, observamos maior tempo de permanência dos animais P15% no compartimento claro, assim como, menor número de transições entre os compartimentos. Rajput e Khan (2017), trataram ratos idosos com o extrato da fruta de *Nelumbo Nuciferam* (fonte de antioxidante) por meio de gavagem, sendo administrada 200mg/kg, durante 4 semanas, e observaram maior tempo de permanência dos animais no compartimento claro. Mohale *et al.* (2016),

observaram que animais idosos tratados com o extrato da planta *Nerium indicum*, (fonte de antioxidante e fibras alimentares), apresentaram maior número de transições entre os compartimentos, além de menor tempo de permanências no compartimento escuro. Estes animais foram tratados por 21 dias, sendo administrado 200mg/kg do extrato da planta, por meio de gavagem.

Diante disto, decidimos avaliar também os níveis de malondialdeído (MDA), do tecido cerebral dos roedores, sendo este o principal marcador de peroxidação lipídica (JAYAKUMAR *et al.*, 2007). Concentrações elevadas de MDA, indica danos no tecido cerebral (MOON *et al.*, 2014). Em nosso estudo, foi observado uma redução dos níveis de MDA em todos os grupos que receberam Palma, sendo o grupo P15%, o que apresentou menores concentrações comparado aos demais. Os achados em nosso estudo indicam que a palma protege o tecido cerebral contra os efeitos deletérios dos radicais livres. No estudo de Coban, *et al.* (2015), ratos de meia idade tratados por 5 semanas, com a administração de 300mg/kg do extrato do mirtilo (fruta rica em antioxidantes), apresentaram redução significativa nos níveis de MDA no cérebro.

O envelhecimento contribui para o aumento dos riscos de várias patologias no SNC, a exemplo da redução do volume do cérebro, velocidade do fluxo sanguíneo e aumento da neurodegeneração (SALAT, *et al.*, 1999; MORENO-TORRES, *et al.*, 2005; SASTRY e RAO, 2000 ; WALHOVD *et al.*, 2011; TRIFUNOVIC e LARSSON, 2008). Com o aumento da idade, ocorre o aumento dos níveis de ansiedade e depressão (VINK, *et al.*, 2009). O declínio funcional e as alterações da função imunológica decorrente do envelhecimento, estão associadas com o estresse oxidativo e inflamatório, que dificultam a homeostase do corpo (DE LA FUENTE e MIQUEL, 2009).

Evidências apontam que alimentos fonte de antioxidantes e compostos funcionais podem atuar na redução do estresse oxidativo, e conseqüentemente no envelhecimento de forma geral. O consumo desses compostos está associado com a prevenção das doenças neurodegenerativas. A palma forrageira (*Opuntia fícus-indica*), possui em sua composição quantidades significativas de fibras, vitaminas, minerais e substâncias bioativas, a exemplo dos carotenóides, ácidos fenólicos, flavonóides, polifenóis, sendo considerada assim, uma boa fonte de compostos antioxidantes naturais (BOUTAKIOUT, *et al.*, 2017; FARAG, *et al.*, 2020; SILVA, *et al.*, 2021). Alimentos fontes de antioxidantes estão relacionados com redução de estresse oxidativo e prevenção de transtornos

comportamentais, como alterações de ansiedade, depressão e preservação da memória (SUBASH *et al.*, 2016; LEMOS, *et al.*, 2022).

Além dos compostos bioativos presentes na palma forrageira, esta também apresenta quantidades significativas de mineiras, a exemplo do magnésio ( $1380 \pm 137$  mg/100 g) e zinco ( $0,368 \pm 0,208$  mg/100 g) (SILVA *et al.*, 2021). Evidências apontam que a baixa ingestão de zinco e magnésio estão associados com sintomas de depressão e ansiedade (NAKAMURA *et al.*, 2019). O magnésio atua nas vias enzimáticas e de neurotransmissores, regulando o humor, atuando dessa forma na redução dos sintomas de ansiedade (TARLETON *et al.*, 2019). O zinco atua como um regulador dos receptores cerebrais, sua deficiência está relacionada com transtornos psicológicos (ROCHA, MYVA, ALMEIDA, 2020).

Os achados do presente trabalho são importantes, tendo em vista que o consumo da farinha de palma durante a fase idosa traz benefícios para comportamentos de ansiedade e estresse oxidativo cerebral. Em países como Estados Unidos, Japão e México a palma forrageira é utilizada na alimentação humana, já no Brasil a palma é comumente utilizada como fonte alimentar para bovinos, possuindo eficácia também na medicina popular, e como corante natural. Esse estudo pode estimular o desenvolvimento de novas pesquisas para avaliar os efeitos dos compostos presentes na palma sobre a ansiedade em humanos na fase idosa da vida.

## **CONCLUSÃO**

Nossa pesquisa mostrou que os animais idosos tratados com a farinha de palma em diferentes concentrações apresentaram um comportamento ansiolítico, além da redução da peroxidação lipídica cerebral, sendo o efeito protetor maior nos animais tratados com a maior concentração (P15%). A *Opuntia ficus-indica* é uma excelente fonte de compostos bioativos e antioxidantes dietéticos, possivelmente relacionados a redução da peroxidação lipídica associado ao declínio cognitivo e transtornos de ansiedade.

## **FINANCIAMENTO**

A presente pesquisa foi parcialmente financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES), e pelo professor da

UFPB, Marcelo Sobral da Silva; Chamada INCT-MCTI/ CNPQ/CAPES/FAPS N° 16/2014 000003295.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos os autores que contribuíram com a realização dessa pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- ALBANO, C. *et al.* Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear fruits [Opuntia ficus-indica (L.) Mill.]. **From Apulian genotypes (southern Italy)**, v. 4, p. 269-280, 2015.
- BELLORA, R.M., *et al.* Transtornos de Ansiedade em Idosos: Prevalência, perfil e fatores associados em um ambulatório de Psiquiatria Geriátrica de Porto Alegre, Brasil. **PAJAR - Pan-American Journal of Aging Research**, v.9, n. 1, p.1-9, 2021.
- BENZIER, J.J. *et al.* The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BHANDARI, A. *et al.* Dietary Supplementation With Tinospora cordifolia Improves Anxiety-Type Behavior and Cognitive Impairments in Middle-Aged Acyclic Female Rats. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v.14, p. 944144, 2022.
- BÔAS, G.R.V. *et al.* The ethanolic extract obtained from Campomanesia pubescens (D.C.) O. BERG fruits exerts anxiolytic and antidepressant effects on chronic mild stress model and on anxiety models in Wistar rats: Behavioral evidences. **Nutritional Neuroscience**, v.23, n.1, p.16-26,2020.
- BOURIN, M. *et al.* The mouse light/dark box test. **European Journal Pharmacology**, v. 28, n. 463, p. 55-65, 2003.
- BOUTAKIOUT, A. *et al.* Effects of different harvest times on the antioxidant activity and phenolic content of prickly pear cladode juice. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, 471–480, 2017.
- BRADLEY, B. F. *et al.* Anxiolytic effects of Lavandula angustifolia odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 517-525, 2007.
- BROWN, R.E. *et al.* Differences in measures of exploration and fear in MHC-congenic C57BL/6J and B6-H-2K mice. **Behavior Genetics**. v.29, p.263-271, 1999.
- CHISTÉ, R, C. *et al.* Carotenoids inhibit lipid peroxidation and hemoglobin oxidation, but not the depletion of glutathione induced by ROS in human erythrocytes. **Life Sciences**, v. 99, p. 52-60, 2014.

CHOI, M. *et al.* Physical activity, quality of life and successful ageing among community-dwelling older adults. **International Nursing Review**, v. 64, n.3, p.396-404, 2017.

COBAN, J. *et al.* Blueberry treatment decreased D-galactose-induced oxidative stress and brain damage in rats. **Metabolic Brain Disease**, v. 30, p. 793-802, 2015.

DE LA FUENTE. M, MIQUEL. J. An update of the advanced inflammation theory of aging: the involvement of the immune system in oxy-inflammatory aging. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 26 p. 3003–3026,2009.

Diretrizes ARRIVE 2.0: **diretrizes atualizadas para relato de pesquisas com animais**. Originalmente publicado na PLOS Biology, julho de 2020.

DOS SANTOS, O. V. *et al.* Antioxidative and morphological properties of Terminalia catappa linn at different maturation stages. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 12, p. 30315-30326, 2019.

ESTERBAUER, M.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonyldialdihyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-421, 1990.

FARAG, M.A. *et al.* Metabolic profile of three Opuntia ficus-indica fruit cultivars using UPLCQTOF-MS in relation to their antioxidant potential. **Food Bioscience**, v. 36, 100673, 2020.

FLINT, J. Animal models of anxiety and their molecular dissection. **Seminars in Cell & Developmental Biology**. v. 14, p. 37-42, 2003.

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.

HARTMAN, L., LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practice**, London, v.22, p.475-476, 1973.

HORWITZ, W. **Métodos oficiais de análise da Associação de Químicos Analíticos Oficiais**. 18ª ed. AOAC, Gaithersburg, MD 2005; 97 – 98.

JAYAKUMAR, T.; THOMAS, P. A.; GERALDINE, P. Protective effect of an extract of the oyster mushroom, Pleurotus ostreatus, on antioxidants of major organs of aged rats. **Experimental gerontology**, v. 42, n. 3, p. 183-191, 2007

JOSEPH, J. A.; HALE, B.S.; CASADESUS, G., “Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds,”. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 313–316, 2005.

LEMOS, A.F., SILVA, A.S., COUTINHO, G.C.*et al.* Diet in the treatment of anxiety disorder. **Research, Society and Development**, v. 11, n.14, e547111436897, 2022.

LIBERATO, P.S.; LIMA, D.V.; SILVA, G.M.B. PANCS - non-conventional food plants and their nutritional benefits. **Environ. Smoke**, v.2, n.2,2019.

LIBERATO, P.S.; LIMA, D.V.; SILVA, G.M.B. PANCS - Non-Conventional food plants and their nutritional benefits. **Environ. Smoke**, v.2, n.2,2019.

LIU, M. *et al.* Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, p. 2926–2930, 2002.

**Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais** [recurso eletrônico]: DSM-5 / [American Psychiatric Association; tradução: Maria Inês Corrêa Nascimento ... *et al.*]; Revisão Técnica: Aristides Volpato Cordioli ... [et al.]. – 5. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Artmed, 2014.

MOHALE, D.S. *et al.* Evaluation of antioxidant effect of Nerium indicum in anxious rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v.48, n. 4, p. 430-433, 2016.

MOON, M. L. *et al.* The saturated fatty acid, palmitic acid, induces anxiety-like behavior in mice. **Metabolism**, v. 63, n. 9, p. 1131-1140, 2014.

MORENO-TORRES, A. *et al.* Age-related metabolic changes in the upper brainstem tegmentum by MR spectroscopy. **Neurobiology of Aging**, v. 26, 1051–1059, 2005.

NAKAMURA, M., MIURA, A., NAGAHATA, T. Low Zinc, Copper, and Manganese Intake is Associated with Depression and Anxiety Symptoms in the Japanese Working Population: Findings from the Eating Habit and Well-Being Study. **Nutrients**, v. 11, n. 4, p. 847, 2019.

NIN, M.S. *et al.* Anxiolytic effect of clonazepam in female rats: hygiene microstructure tests and elevated plus maze. **European Journal of Pharmacology**, v. 684, p. 95–101, 2012.

NUNES, R.,*et al.* Assessing global changing food patterns: A country-level analysis on the consumption of food products with health and wellness claims. **Journal of Cleaner Production**, v. 264, p. 121613, 2020.

OROSZI, T. *et al.* Whole Body Vibration Improves Spatial Memory, Anxiety-Like Behavior, and Motor Performance in Aged Male and Female Rats. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 13, 2022.

PATKI, G. *et al.* Grape powder treatment prevents anxiety-like behavior in a rat model of aging. **Nutrition Research**, v. 35, n.6, p.504-511, 2015.

PEREIRA, E. DA S. **Efeito do exercício físico combinado com ingestão de polpa de açaí sobre o comportamento e eventos moleculares em ratos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2019.

PROSKY, *et al.* Determination of total dietary fiber in foods and food products: a collaborative study. **Journal Association Offline**. Anal. Chem, v. 68, p. 677-679, 1985.

PRUT, L., BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, p. 3-33, 2003.

QUEIROZ, E. R. **Frações de lichia: caracterização química e avaliação de compostos bioativos**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

RAJPUT, M.A., KHAN, R.A. Phytochemical screening, acute toxicity, anxiolytic and antidepressant activities of the *Nelumbo nucifera* fruit. **Metabolic Brain Disease** v. 32, p. 743–749, 2017.

REEVES, P.G., NIELSEN, F.H., FAHEY, G.C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of Nutrition**, v.123, n.11, p. 1939–1951, 1993.

ROCHA, A.C.B., MYVA, L.M.M., ALMEIDA, S.G. The role of food in the treatment of anxiety and depression disorders. **Research, Society and Development**, v. 9, n.9, e724997890, 2020.

ROCKENBACH, I.I. *et al.* Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*vitis vinifera* L. and *vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**. v. 127, p. 174-179, 2011.

SALAT, D. H., KAYE, J. A., JANOWSKY, J. S. Prefrontal gray and white matter volumes in healthy aging and Alzheimer disease. **Archives of neurology**. v. 56, p. 38–344, 1999.

SALEM, N. Jr. *et al.* Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. **An authoritative review of the important role of the essential fatty acid DHA in neural systems**. v. 36, p. 945-959, 2001.

SARIBURUN, E. *et al.* Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. **Journal of food Science**, v. 75, n. 4, p. 328-325, 2010.

SASTRY, P. S., RAO, K. S. Apoptosis and the nervous system. **Journal of Neurochemistry**. v. 74, p. 1–20, 2000.

SHAN, Q. *et al.* Purple sweet potato color ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative damage and inflammation in aging mouse brain induced by D-galactose. **Journal of biomedicine and biotechnology**, v. 2009.

SILVA, M.A. *et al.* *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: A Multi-Benefit Potential to Be Exploited. **Molecules**, v. 26, n.4, 2021.

SING, H. *et al.* Intermittent fasting combined with supplementation with Ayurvedic herbs reduces anxiety in middle aged female rats by anti-inflammatory pathways. **Biogerontology**, v. 18, n. 4, p. 601-614, 2017.

SUBASH, S. *et al.* Consumption of fig fruits grown in Oman can improve memory, anxiety, and learning skills in a transgenic mice model of Alzheimer's disease. **Nutritional Neuroscience**, v. 19, n. 10, p. 475-483, 2016.

SUBRAMANYAM A.A, *et al.* Clinical practice guidelines for Geriatric Anxiety Disorders. **Indian Journal of Psychiatry**.v. 60, n.3, p. 371-382, 2018.

TARLETON, E. K. *et al.* The Association between Serum Magnesium Levels and Depression in an Adult Primary Care Population. **Nutrients**, v. 11, n.7, p.1475, 2019.

TRIFU NOVIC, A., AND LARSSON, N. G. Mitochondrial dysfunction as a cause of ageing. **Journal of Internal Medicine**. v.263, p.167–178, 2008.

VIN, K. D. *et al.* Onset of anxiety and depression in the elderly population: comparison of risk factors in a 9-year prospective study. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 17, n.8, p.642–652, 2009.

WALF, A.A, FRYE, C.A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, v. 2, n. 2, p.322–328, 2007.

WALHOVD, K.B. *et al.* Consistent neuroanatomical age-related volume differences across multiple samples. **Neurobiology of Aging**, v.32, p. 916–932, 2011.

WANG, H. *et al.* Protective role of antioxidant supplementation for depression and anxiety: A meta-analysis of randomized clinical trials. **Journal of Affective Disorders**, v. 323, p. 264-279, 2022.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, WU. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p.555-559, 1999.