

Carlota Rodrigues Marques

Análise nutricional do fruto *Carpobrotus edulis*: potencial aplicação na nutrição

Ciências da Nutrição

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2024



Carlota Rodrigues Marques

Análise nutricional do fruto *Carpobrotus edulis*: potencial aplicação na nutrição

Ciências da Nutrição

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2024

Carlota Rodrigues Marques

Análise nutricional do fruto *Carpobrotus edulis*: potencial aplicação na nutrição

Declaro para os devidos efeitos ter atuado com integridade na elaboração deste Trabalho de Projeto, atesto a originalidade do trabalho, confirmo que não incorri em plágio e que todas as frases que retirei de textos de outros autores foram devidamente citadas ou redigidas com outras palavras e devidamente referenciadas na bibliografia.

*Carlota Rodrigues Marques*

---

(Carlota Rodrigues Marques)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa  
como parte dos requisitos para obtenção do grau de  
licenciado em Ciências da Nutrição.

Orientadora:

Professora Doutora Ana F. Vinha

Coorientadora:

Professora Doutora Carla Sousa

## I. Índice

II. Índice de figuras e tabelas .....	III
III. Lista de siglas .....	IV
IV. Título, autores e afiliação acadêmica .....	V
V. Publicações .....	VI
VI. Resumo e palavras-chave .....	VII
VII. Abstract e keywords .....	VIII
1. Introdução .....	1
2. Materiais e métodos .....	2
2.1. Reagentes .....	2
2.2. Preparação da amostra .....	3
2.3. Perfil nutricional .....	3
2.3.1. Análise centesimal .....	3
2.4. Composição mineral .....	3
2.5. Determinação da composição em ácidos gordos .....	4
2.5.1. Derivatização .....	4
2.5.2. Análise cromatográfica .....	5
2.6. Compostos bioativos e atividade antioxidante .....	5
2.6.1. Preparação dos extratos .....	5
2.6.2. Fenólicos totais e flavonoides totais .....	6
2.6.3. Atividade antioxidante .....	6
2.7. Análise estatística .....	7
3. Resultados e discussão .....	7
4. Conclusões .....	12

5. Agradecimentos .....	13
6. Referências bibliográficas .....	14
7. Figuras e tabelas .....	19
8. Anexos .....	24
Anexo I - Resumo da publicação “ <i>Carpobrotus edulis</i> as a facultative halophytic invasive fruit with medicinal properties” .....	24

## II. Índice de figuras e tabelas

Figura 1 - Morfologia das flores de <i>Carpobrotus edulis</i> e área de distribuição costeira	19
Tabela 1 - Resultados da composição centesimal dos frutos de <i>C. edulis</i> (g/100 g) .....	20
Tabela 2 - Conteúdo total de minerais essenciais, oligoelementos não essenciais e tóxicos e macromelementos em frutos de <i>C. edulis</i> .....	21
Tabela 3 - Perfil de ácidos gordos (%) obtido dos frutos de <i>C. edulis</i> colhidos na costa oeste do norte de Portugal .....	22
Tabela 4 - Quantificação dos compostos bioativos e avaliação da atividade antioxidante de extratos de frutos de <i>C. edulis</i> .....	23

### **III. Lista de siglas**

EAG - Equivalentes de Ácido Gálico

EC - Equivalentes de Catequina

FAME - *Fatty Acid Methyl Esters* (do português: Ésteres Metílicos de Ácidos Gordos)

FLT - Flavonoides Totais

FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power* (do português: Poder Antioxidante Redutor Férrico)

FT - Fenólicos Totais

GC-FID - *Gas Chromatography Coupled with Flame Ionization Detector* (do português: Cromatografia Gasosa Acoplada com Detetor de Ionização de Chama)

HPLC - *High Performance Liquid Chromatography* (do português: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

#### **IV. Título, autores e afiliação académica**

Análise nutricional do fruto *Carpobrotus edulis*: potencial aplicação na nutrição

Nutritional analysis of the *Carpobrotus edulis* fruit: potential application in nutrition

Carlota Rodrigues Marques<sup>1</sup>, Carla Sousa<sup>2</sup>, Ana F. Vinha<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Estudante finalista do 1º Ciclo de Ciências da Nutrição da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa.

<sup>2</sup>Professora Associada da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa.

<sup>3</sup>Professora Associada da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa.

Carlota Rodrigues Marques

E-mail: 41183@ufp.edu.pt

Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa

Contagem de palavras: 7570

Número de figuras/tabelas: 5

Número de referências bibliográficas: 36

Conflitos de interesse: nada a declarar.

## **V. Publicações**

Rodrigues CM, Sousa C, Vinha AF. *Carpobrotus edulis* as a facultative halophytic invasive fruit with medicinal properties [resumo]. Em: Ibrahimova G, Kidiryuz M, editors. EUROASIA International Congress on Scientific Researches and Recent Trends-XII; 2023 Nov 29-30; Ankara (TR). Ankara (TR): IKSAD Publications; 2023. p. 539.

Marques CR, Sousa C, Moutinho C, Vinha AF. Characterization of dietary constituents and antioxidant capacity of *Carpobrotus edulis* fruit: potential application in nutrition, submetido para Plants (2024).

## VI. Resumo e palavras-chave

**Introdução:** As plantas invasoras são, atualmente, uma das principais ameaças à biodiversidade global e Portugal possui um grave problema de invasão por estas espécies, as quais têm promovido a uma alteração dos ecossistemas nativos. Desta forma, torna-se imperativo estudá-las, não só na ótica botânica, mas também como recurso natural edível.

**Objetivos:** Este estudo pretendeu valorizar os frutos de *Carpobrotus edulis* (L.), uma planta invasora da costa de Portugal, como fonte alimentar rica em nutrientes e compostos bioativos para consumo direto e/ou incorporação em matrizes alimentares.

**Metodologia:** Para a análise centesimal (humidade, cinzas, proteína bruta, gordura total e hidratos de carbono) seguiram-se os protocolos da Associação de Químicos Analíticos Oficiais. O perfil de minerais foi realizado por absorção atômica de chama. Os ácidos gordos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada com detetor de ionização de chama após conversão em ésteres metílicos de ácidos gordos. A determinação dos teores de compostos fenólicos e de flavonoides totais em diferentes extratos seguiu metodologias colorimétricas e a atividade antioxidante foi estudada recorrendo a duas metodologias analíticas correntes: método DPPH• e FRAP.

**Resultados:** Os frutos de *C. edulis* contêm elevados teores de hidratos de carbono (60,5%), proteína total (22,8%) e cinzas (10,9%). Em contraste, foram observados teores baixos de gordura (4,5%). No que toca ao perfil mineral, os macrossolutores maioritários presentes no fruto estudado foram o cálcio (Ca) (12,44 mg/g), magnésio (Mg) (2,98 mg/g) e potássio (K) (1,24 mg/g), respetivamente. Da fração lipídica, o ácido linoleico (52,08%), o ácido oleico (17,51%) e o ácido palmítico (12,41%) foram os principais ácidos gordos encontrados nos frutos. O extrato hidroalcoólico obteve maior concentração de fenólicos totais (311,7 mg EAG/g) e de flavonoides totais (50,43 mg EC/g). Todos os extratos demonstraram elevado potencial antioxidante, no entanto, o extrato hidroalcoólico apresentou maior atividade (DPPH•: 95,89%; FRAP: 47,27%).

**Conclusões:** O perfil centesimal e a presença de compostos bioativos associados às propriedades antioxidantes divulgadas nos frutos de *C. edulis* valorizam o seu potencial para aplicação em indústrias alimentares e nutracêuticas com benefícios para a saúde.

**Palavras-chave:** Frutos de *Carpobrotus edulis* (L.); Caracterização nutricional; Perfil mineral; Ácidos gordos; Compostos bioativos; Atividade antioxidante.

## VII. Abstract e keywords

**Introduction:** Invasive plants are currently one of the most severe dangers to worldwide biodiversity and Portugal is experiencing an extensive invasion by these species, which has caused modifications to native ecosystems. As a result, it is critical to study them, not only from a botanical point of view, but also as an edible natural resource.

**Aims:** The purpose of this study was to assess the utility of the fruits of *Carpobrotus edulis* (L.), an invasive plant from the Portuguese coast, as a nutritional and bioactive component source for direct consumption and/or integration into food matrices.

**Methodology:** The centesimal analysis (moisture, ash, crude protein, total fat, and carbs) was performed in accordance with Association of Official Agricultural Chemists standards. Mineral profile was performed by flame atomic absorption spectrometry assay. Fatty acids were analyzed by gas chromatography coupled with flame ionization detector after conversion to fatty acid methyl esters. The amounts of phenolic compounds and total flavonoids in different extract were determined using colorimetric approaches, and antioxidant activity was investigated using two current analytical procedures: DPPH• and FRAP methods.

**Results:** *C. edulis* fruits contain high amounts of carbohydrates (60.5%), total protein (22.8%), and ashes (10.9%). In contrast, low contents of fat (4.5%) were observed. Regarding the mineral profile, the major macroelements present in fruits were calcium (Ca) (12.44 mg/g), magnesium (Mg) (2.98 mg/g) and potassium (K) (1.24 mg/g), respectively. Of the lipid fraction, linoleic acid (52.08%), oleic acid (17.51%) and palmitic acid (12.41%) were the main fatty acids found in the fruits. The hydroalcoholic extract exhibited greater amounts of total phenolics (311.7 mg EAG/g) and total flavonoids (50.43 mg EC/g). All extracts had considerable antioxidant activity, however the hydroalcoholic extract was more effective (DPPH•: 95.89%; FRAP: 47.27%).

**Conclusions:** The centesimal profile and the presence of bioactive compounds related to antioxidant attributes found in *C. edulis* fruits highlight their potential for use in the food and nutraceutical industries with health benefits.

**Keywords:** *Carpobrotus edulis* (L.) fruits; Nutritional characterization; Mineral profile; Fatty acids; Bioactive compounds; Antioxidant activity.

## 1. Introdução

*Carpobrotus edulis* (L.) é uma espécie nativa da África do Sul que cresce abundantemente ao longo da costa da maior parte da região do Mediterrâneo. A elevada taxa proliferativa desta planta invasora permite que a mesma seja encontrada nas falésias, dunas e rochas costeiras, restringindo a expansão e conseqüente desenvolvimento das espécies nativas (Figura 1) (1, 2).

Tendo em consideração o acima referido, verifica-se que, nos últimos anos, as plantas invasoras têm vindo a ganhar popularidade, não apenas no que toca ao seu controlo ecológico, como também pelo seu potencial valor como alimento alternativo e/ou fonte de compostos bioativos, impulsionando o desenvolvimento de uma economia sustentável. Na verdade, esta espécie halófita já foi introduzida em todos os cinco continentes para fins ornamentais e de estabilidade do solo, no entanto, a mesma comporta-se como um competidor agressivo contra a flora local, capaz de afetar as propriedades físico-químicas do solo e os processos geoquímicos. De acordo com o Tratado Internacional sobre Recursos Fitogenéticos para a Alimentação e Agricultura da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, o uso sustentável e a distribuição equitativa dos recursos naturais são uma preocupação primordial para a humanidade (3).

*C. edulis* é amplamente reconhecida como uma planta culinária e medicinal (4, 5). Esta espécie tem sido tradicionalmente considerada como uma planta edível, consumida crua ou como alimento processado, tais como geleias ou compotas. As suas folhas são usadas como vegetais e os seus frutos, doces e apimentados, são também apreciados para consumo. Outras aplicações já foram também descritas, usando-as como aditivo natural (para adicionar sabor) e/ou como conservante (4, 6). No que toca ao aporte nutricional dos frutos, Broomhead et al. (7) referiram que estes contêm um elevado teor de humidade (77,6% a 90,3%), hidratos de carbono (58,8% a 70,3%) e valor energético (1240 a 1370 kJ/100 g), apresentando quantidades adequadas de proteína (8,1% a 26,0%) e baixo teor lipídico (0,9% a 2,4%). Para além do seu aporte nutricional, esta espécie possui vários compostos bioativos que desempenham diversas funções biológicas, incluindo propriedades antioxidantes (8), antibacterianas e antifúngicas (9, 10), antiproliferativas (11) e neuroprotetoras (12). Os flavonoides e os ácidos fenólicos são os fitoquímicos mais comuns descritos nesta espécie (13), seguidos dos taninos, cumarinas, triterpenos e alcaloides. Máximo et al. (2) descreveram a amirina (triterpeno), o ácido oleanólico

(triterpeno pentacíclico), o uvaol (álcool terpénico), a catequina e epicatequina (flavonoide) e a procianidina B5 (tanino) em diferentes órgãos desta planta. Em contraste, Sabiu et al. (14) descreveram outros flavonoides (rutina e luteolina), ácidos fenólicos (ácidos clorogénico e sinápico) e alcaloides (cacticina) em frutos e folhas de *C. edulis*.

Em suma, a utilização desta planta, particularmente em matrizes alimentares, destaca-se como uma potencial linha de pesquisa e de valorização. Atualmente, alguns estudos publicados sobre *C. edulis* têm-se concentrado, principalmente, em extratos de folhas, existindo pouca informação sobre os restantes órgãos, incluindo frutos. Desta forma, este estudo mostra-se inovador, estudando a composição centesimal, o perfil de minerais e o perfil de ácidos gordos. Para além disso, foram também avaliados os teores de fenólicos totais (FT) e de flavonoides totais (FLT), bem como a atividade antioxidante dos frutos de *C. edulis* colhidos na costa oeste do norte de Portugal.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste trabalho tinham grau analítico.

Pastilhas catalisadoras Kjeldahl ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{CuSO}_4$ ), ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), n-hexano para HPLC, reagente de Folin-Ciocalteu da Merck (Darmstadt, Alemanha). Hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ), metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), hidróxido de potássio ( $\text{KOH}$ ) da VWR International (Leuven, Bélgica). Ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) da Panreac (Barcelona, Espanha). Éter de petróleo, trifluoreto de boro ( $\text{BF}_3$ ), carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), ácido gálico ( $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_3\text{COOH}$ ), 2,2-difenil-1-picrilhidrazila ( $\text{DPPH}^\bullet$ ), solução tripiridiltriazina (TPTZ), acetato de sódio ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ ), ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) e sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ), Trolox ( $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$ ), catequina ( $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ ) da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA). Mistura de padrões de ácidos gordos (FAME 37, Supelco, Bellefonte, PA, USA). Etanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ) absoluto da Fisher Chemical (Loughborough, Inglaterra).

## 2.2. Preparação da amostra

Os frutos de *Carpobrotus edulis* foram colhidos ao longo do ano de 2023, no verão (julho), na costa oeste do norte de Portugal (praias de Granja, Miramar e Espinho), conforme representado na Figura 1. Os frutos foram colhidos manualmente, armazenados em frascos a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  e posteriormente liofilizados (Telstar Cryodos-80 Terrassa, Barcelona, Espanha). Seguidamente, os frutos desidratados foram moídos num moinho (Grindomix GM 200, Rech, Alemanha) de forma a garantir amostras pulverizadas e homogéneas. Os preparados (amostras) foram usados para realizar as análises centesimais e fitoquímicas. Todas as determinações analíticas foram efetuadas em triplicado.

## 2.3. Perfil nutricional

### 2.3.1. Análise centesimal

Para a determinação do teor de humidade usaram-se frutos recém-colhidos (frescos) através de uma balança infravermelha (Scaltec tipo SMO01, Scaltec Instruments, Heiligenstadt, Alemanha). Todas as restantes análises nutricionais seguiram os métodos oficiais de análise da Associação de Químicos Analíticos Oficiais (15). Resumidamente, as cinzas foram determinadas após incineração direta a  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ . As técnicas de Soxhlet e Kjeldahl foram usadas para estimar o teor de gordura total e proteína bruta, respetivamente. O teor total de hidratos de carbono foi calculado por diferença (16). Todos os resultados foram expressos em g por 100 g de peso seco. O valor energético foi obtido utilizando os fatores de Atwater, específicos para frutos  $[(14,1 \times \% \text{ proteínas brutas}) + (35 \times \% \text{ gorduras totais}) + (15,1 \times \% \text{ carboidratos totais})]$  (16).

## 2.4. Composição mineral

O perfil de minerais foi realizado recorrendo aos procedimentos analíticos previamente descritos por Vinha et al. (17), com algumas alterações. Resumidamente, aproximadamente 250 mg de amostra foram tratadas, recorrendo a uma digestão por micro-ondas (MLS-1200 Mega) com um rotor HPR-1000/10 S (Milestone, Sorisole, Itália) usando uma solução de 65% de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) e 30% de peróxido de hidrogénio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Após a digestão, a solução resultante foi diluída com 25 mL de água ultrapura. Os teores de macro e oligoelementos foram medidos usando um espectrómetro

de absorção atômica de chama (ar-acetileno) Perkin Elmer 3100 de Überlingen, Alemanha. Os padrões usados para as retas de calibração foram obtidos através de diluições de soluções padrão de Ca, Na, Mg, Fe ou K para concentrações de 1000 mg/L. A análise elementar foi realizada usando um iCAP™ Q ICP-MS (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Alemanha). Padrões de calibração (0,5-300 µg/L) foram obtidos de uma solução padrão multielementar comercial PlasmaCAL SCP-33-MS de 10 mg/L. A solução AccuTrace™ ICP-MS-200.8-IS-1, incluindo 100 mg/L de Sc, Y, In, Tb e Bi, foi diluída para criar uma solução de padrões internos de 100 µg/L. Foram avaliados os seguintes isótopos: <sup>7</sup>Li, <sup>9</sup>Be, <sup>11</sup>B, <sup>27</sup>Al, <sup>48</sup>Ti, <sup>51</sup>V, <sup>52</sup>Cr, <sup>55</sup>Mn, <sup>59</sup>Co, <sup>60</sup>Ni, <sup>65</sup>Cu, <sup>66</sup>Zn, <sup>75</sup>As, <sup>82</sup>Se, <sup>85</sup>Rb, <sup>88</sup>Sr, <sup>90</sup>Zr, <sup>98</sup>Mo, <sup>111</sup>Cd, <sup>118</sup>Sn, <sup>121</sup>S, <sup>133</sup>Cs, <sup>137</sup>Ba, <sup>182</sup>W, <sup>208</sup>Pb e <sup>209</sup>Bi. Todas as medições foram efetuadas em triplicado e os resultados expressos em peso seco.

## **2.5. Determinação da composição em ácidos gordos**

A determinação da composição em ácidos gordos foi efetuada na gordura extraída e analisada por cromatografia gasosa acoplada com detetor de ionização de chama (GC-FID). A derivatização dos ácidos gordos em ésteres metílicos foi efetuada de acordo com o método descrito por Shantha e Ackman (18), com ligeiras modificações. O processo de transesterificação dos lípidos fez-se em meio alcalino e a metilação deu-se na presença de um catalisador, o trifluoreto de boro (BF<sub>3</sub> 14% em metanol, solução comercial).

### **2.5.1. Derivatização**

Num vial clear de 4 mL misturaram-se 40 µL de gordura e 3 mL de n-hexano. À mistura adicionaram-se 200 µL de solução metanólica de hidróxido de potássio (2 M) e vortexou-se durante 1 minuto. Seguidamente, adicionaram-se ~ 500 mg de sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), para retirar vestígios de água, voltou-se a vortexar e a centrifugar (Heraeus Sepatech Labofuge Ae, Heraeus Instruments, Alemanha) a 3000 rpm durante 5 minutos para obter uma separação das fases aquosa e orgânica. Após repouso, o sobrenadante foi transferido para um vial clear de 4 mL, com rolha de septo perfurável, com mais um pouco de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, para remoção de qualquer vestígio de água. De seguida

a fase orgânica foi transferida para um vial clear de 2 mL, para injetor automático, com rolhas perfuráveis, e conservado a -20 °C até ao momento da análise cromatográfica (19).

### **2.5.2. Análise cromatográfica**

Para a análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME) utilizou-se um cromatógrafo gasoso Shimadzu GC-2010 com um detetor de ionização de chama (Shimadzu, Columbia). O cromatógrafo estava equipado com uma coluna capilar de sílica fundida CP-SIL 88 (Varian, Middelburg, The Netherlands; 50 mm x 0,25 mm diâmetro interno, 0,19 µm de espessura de filme). Utilizaram-se as seguintes condições analíticas: corrente gasosa de hélio, à pressão interna inicial de 120 kPa; temperatura da coluna 120 °C durante 5 minutos, programada para aumentar até 220 °C à velocidade de 3 °C/minuto, permanecendo a esta temperatura durante 10 minutos; temperatura do injetor e do detetor de 250 °C e 270 °C, respetivamente; razão de split: 1:50; volume de injeção 1,0 µL. Cada injeção foi efetuada em duplicado. Os FAME foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos picos das amostras com os da mistura de padrões de FAME. Para o tratamento dos dados recorreu-se ao software GS Solution (versão 2.30, Shimadzu GC Solution, Shimadzu, Columbia). Cada FAME foi expresso em % de peso dos FAME totais presentes no cromatograma (20).

## **2.6. Compostos bioativos e atividade antioxidante**

### **2.6.1. Preparação dos extratos**

A avaliação dos compostos bioativos (fenólicos totais e flavonoides totais), bem como da atividade antioxidante, foi determinada em extratos aquosos, etanólicos e hidroalcoólicos. Para a obtenção dos extratos, as amostras foram submetidas a três tipos de extrações: 100 mL de água desionizada ou 100 mL de etanol puro ou uma mistura etanol:água (50:50), por maceração (0,5 g/100 mL de solvente, durante 60 minutos a 40 °C), seguindo-se as condições do método validado por Costa et al. (21). As extrações foram efetuadas em placa de aquecimento com agitação constante de 600 rpm (Variomag, Telemodul 40 CT, Alemanha). Os extratos obtidos foram, posteriormente, filtrados com papel de filtro Whatman No.1 e congelados a -25 °C, para posterior análise. Todos os extratos foram efetuados em triplicado.

### 2.6.2. Fenólicos totais e flavonoides totais

Para determinação do teor de fenólicos totais foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu, seguindo o procedimento analítico descrito por Vinha et al. (22). Antes de iniciar, 150 µL de reagente de Folin-Ciocalteu (1:10) e 120 µL de solução aquosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5% p/v) foram adicionados a 30 µL de cada extrato de amostra. A mistura final foi incubada a 45 °C por 15 minutos, seguida de 30 minutos de incubação no escuro à temperatura ambiente. As leituras de absorbância a 765 nm foram feitas usando um leitor de microplacas Synergy HT (BioTek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, EUA). O teor de fenólicos foi calculado através de uma curva de calibração, usando ácido gálico como padrão (5-150 mg/L; R<sup>2</sup> = 0,9990), e os resultados foram representados como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de peso seco.

O teor de flavonoides totais foi determinado usando um método colorimétrico, seguindo o procedimento publicado por Costa et al. (21). Para criar a solução final, 1 mL de cada extrato foi combinado com 300 µL de nitrito de sódio a 5% (NaNO<sub>2</sub>) em 4 mL de água destilada. Após uma pausa de 5 minutos em temperatura ambiente, 300 µL de cloreto de alumínio a 10% (AlCl<sub>3</sub>) foram adicionados. Após 1 minuto, 2 mL de hidróxido de sódio (1 M) e 2,4 mL de água destilada foram adicionados à mistura final. A catequina foi usada para estabelecer uma curva padrão (2,5-500 mg/L, R<sup>2</sup> = 0,9994). A absorbância a 510 nm foi medida com um leitor de microplacas Synergy HT (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA). Os resultados foram representados como mg de equivalentes de catequina (EC) por grama de peso seco.

### 2.6.3. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada usando técnicas baseadas no sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH•) e medindo a redução do complexo de ião férrico (Fe<sup>3+</sup>)-ligante para um complexo ferroso (Fe<sup>2+</sup>) azul distinto, ambos os ensaios adaptados por Vinha et al. (22).

Em relação ao método de eliminação de radicais DPPH•, a experiência foi iniciada misturando 270 µL da solução DPPH• previamente preparada (6,1 × 10<sup>-5</sup> M) com 30 µL do padrão Trolox (562 mg/L)/branco/extratos. Para investigar a resposta cinética, a diminuição de DPPH• foi monitorizada usando um leitor de microplacas Synergy HT

(BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA) em intervalos de 10 min e absorção a 525 nm até 20 minutos, quando o ponto final da reação foi atingido. Para determinar a percentagem inibitória (%) para cada extrato de amostra, a técnica descrita foi aplicada.

O ensaio de poder antioxidante redutor férrico (FRAP) utiliza antioxidantes como redutores num processo colorimétrico ligado a redox, reduzindo  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ . Para realizar o experimento, 35  $\mu\text{L}$  de padrão de sulfato ferroso (5-700  $\mu\text{mol}$ )/branco/extratos foram misturados com 265  $\mu\text{L}$  de reagente FRAP (tampão acetato 0,3 M, solução TPTZ 10 mM e  $\text{FeCl}_3$  20 mM). Após 30 minutos de incubação a 37 °C, a absorbância foi medida, a 595 nm, com um leitor de microplacas Synergy HT (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA). A curva padrão foi criada com  $\text{FeSO}_4$  (100-2000  $\mu\text{mol}$ ,  $R^2 = 0,9989$ ), e os resultados expressos como percentagem (%) de atividade antioxidante.

## 2.7. Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente usando o IBM SPSS *Statistics* (versão 26 para Windows, IBM Corp., Armonk, 241 NY, EUA). ANOVA unidirecional foi utilizada para avaliar diferenças significativas entre extratos de frutos de *C. edulis*, seguido por HSD de Tukey, para fazer comparações pareadas entre médias, com um nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## 3. Resultados e discussão

As frutas em geral exercem uma função crucial na manutenção de uma dieta equilibrada, fornecendo ao corpo humano componentes vitais, incluindo macro e micronutrientes. A composição nutricional dos frutos de *C. edulis* está apresentada na Tabela 1.

Em relação aos resultados apresentados na Tabela 1, os frutos de *C. edulis* podem ser considerados uma elevada fonte de cinzas (10,9%) e de proteína bruta (22,8%), apresentando baixo teor de gordura (4,5%). Os hidratos de carbono foram o macronutriente maioritário (60,5%). Mediante os resultados experimentais obtidos, poder-se-á afirmar que os mesmos são consistentes com outros resultados publicados anteriormente. Por exemplo, Broomhead et al. (7) descreveram teores semelhantes de cinzas (10,1%), proteína bruta (23,5%) e açúcares totais (64,4%) em frutos de *C. edulis*

provenientes da África do Sul. Akinyede et al. (4) também descreveram valores idênticos para a humidade (77,6% a 90,3%), proteína bruta (8,1% a 26,0%) e hidratos de carbono (58,8% a 70,3%) em frutos de *C. edulis* de outras proveniências geográficas. No entanto, os resultados obtidos são contraditórios aos descritos por Neves et al. (9), que relataram teores inferiores de proteína (4,67%) e teores superiores de cinzas (22,0%) e hidratos de carbono (70,2%) em frutos de *C. edulis* colhidos nas regiões Sul e Oeste de Portugal.

No que toca ao valor energético, a amostra em estudo obteve um valor de 1392,5 kJ/100 g. Valores semelhantes foram relatados em frutos de cinco espécies de *Carpobrotus*, variando de 1240 a 1370 kJ/100 g para *C. acinaciformis* e *C. edulis* subsp. *edulis*, respetivamente (7).

As variações observadas podem estar relacionadas com as diferenças edafoclimáticas (temperatura, exposição solar e composição do solo) das áreas sul e oeste de Portugal. Além disso, compostos azotados não proteicos, como alcaloides, podem afetar o teor de proteína bruta total da planta *Carpobrotus edulis* (13), o que pode sobrestimar o conteúdo de proteína real.

Os resultados obtidos sugerem que os frutos de *C. edulis*, independentemente da origem, podem apoiar positivamente as necessidades nutricionais humanas através do seu consumo direto, devido às inúmeras quantidades de nutrientes essenciais presentes, em especial quando comparadas com outras frutas, como laranjas, maçãs e uvas.

A ingestão de frutas como parte de um estilo de vida saudável garante um suprimento constante de elementos reguladores, tais como vitaminas, minerais, fibras alimentares e até mesmo compostos não-nutrientes que, embora não visem nutrir, são necessários para a saúde. Em geral, as frutas representam uma fonte importante de minerais. Dado o elevado teor de cinzas obtido nos frutos de *C. edulis*, foi efetuada uma análise do perfil de minerais na amostra (Tabela 2).

A Tabela 2 sumariza os minerais essenciais, elementos traço não essenciais e tóxicos e macroatmentos nos frutos de *C. edulis* colhidos na costa oeste do norte de Portugal. O teor dos elementos importantes na amostra de frutos estudada seguiu um perfil decrescente de Ca > Mg > K > Fe > Zn > Mn > Cu. Em relação aos macroatmentos, o Ca foi o mineral mais significativo (12,44 mg/g), seguido pelo Mg (2,98 mg/g) e K (1,24 mg/g), respetivamente. As plantas geralmente contêm concentrações de Ca entre 5 e 10 mg/g e valores de Mg compreendidos entre 1 e 5 mg/g (23). O resultado obtido neste

estudo foi significativamente maior em comparação aos encontrados em frutos *C. edulis* africanos (Ca ~ 0,012 mg/g) (7) e em todas as partes aéreas de *C. edulis* provenientes da costa sul de Portugal continental (Ca ~ 0,027 mg/g) (24). Estas diferenças observadas podem dever-se a vários processos que influenciam a absorção de Ca, incluindo a mineralização do solo (concentrações de Ca, Mg e K) e a acidificação do mesmo (oscilação do pH) (25). O potássio (K), apesar de ser o macroelemento encontrado em menor quantidade, é absolutamente vital como parte da dieta diária, uma vez que não pode ser sintetizado pelo corpo humano. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (26), a ingestão diária mínima de K é de 3,5 gramas para um adulto. Os frutos de *C. edulis* provam ser um suprimento alimentar substancial para o elemento K, trazendo efeitos benéficos na prevenção da diabetes (27).

Apesar de existirem variações na composição mineral dos frutos de *C. edulis*, o perfil mineral obtido mostrou-se idêntico ao descrito por Broomhead et al. (7) em frutos da mesma espécie. Em geral, a composição mineral dos frutos de *C. edulis* pode ser considerada elevada, especialmente porque os minerais estão relacionados com os teores de cinzas. Na verdade, a quantidade de cinzas dos frutos de *C. edulis* pode ser comparada à da maioria dos vegetais, onde o teor de cinzas pode variar entre 5 e 10 g/100 g (28), incluindo tomates (7,1 g/100 g), batatas (10,4 g/100 g) e espinafres (17,3 - 22,3 g/100 g) (29).

Embora já existam alguns estudos sobre o perfil nutricional em diferentes órgãos de *C. edulis* (4, 7, 9, 12), a caracterização de ácidos gordos em frutos de *C. edulis* é relativamente escassa. Como resultado, o perfil de ácidos gordos destes frutos foi investigado neste estudo para garantir que as suas capacidades medicinais e vantagens nutricionais para a saúde sejam totalmente potenciadas. A percentagem de ácidos gordos dos óleos extraídos dos frutos de *C. edulis* foi avaliada por GC-FID e os resultados são apresentados na Tabela 3.

Neste estudo foram identificados 11 ácidos gordos, sendo o linoleico o ácido gordo essencial predominante nos frutos de *C. edulis*. Em relação à Tabela 3, o ácido linoleico (52,08%), o ácido oleico (17,51%) e o ácido palmítico (12,41%) foram os principais constituintes lipídicos encontrados nos frutos, existindo uma concordância com os resultados obtidos nas folhas de *C. edulis* colhidas no sul de Portugal (30). Da mesma forma, observa-se um perfil idêntico descrito por Neves et al. (9). Por exemplo, Neves et

al. (9) identificaram o ácido decanóico (C11:0) em flores e frutos de *C. edulis* (0,19% e 0,18%, respectivamente). Por outro lado, a nível quantitativo foram observadas diferenças entre os resultados obtidos e outros estudos anteriores. Por exemplo, Neves et al. (9) descreveram menores teores de ácido linoleico (51,33%) e ácido oleico (16,15%) em frutos de *C. edulis*. O ácido linoleico tem sido associado a um menor risco de doença cardiovascular (31). Assim, frutos de *C. edulis* podem ser demonstrados como ricos em ácido linoleico. A presença de ácidos gordos essenciais acrescenta relevância ao consumo de frutos de *C. edulis*. Por exemplo, o ácido  $\alpha$ -linolénico é um precursor do metabolismo do ácido eicosapentaenoico e do ácido docosahexaenoico, componentes essenciais das células cerebrais e no funcionamento do sistema nervoso. A amostra em estudo exibiu níveis mais elevados de ácido  $\alpha$ -linolénico do que os frutos analisados por Neves et al. (9), especificamente 2,10% e 1,74%, respectivamente. Quantidades menores de  $\alpha$ -linolénico foram registadas noutras frutas comumente consumidas, incluindo maçãs (0,2%), arandos (0,3%), bananas (0,5%) e morangos (1,1%) (32).

A análise centesimal das frutas é inquestionavelmente significativa para avaliar os seus valores nutricionais e minimizar a insegurança alimentar. No entanto, as frutas também incluem compostos não-nutrientes, comumente apelidados de compostos bioativos, reconhecidos pelos seus benefícios para a saúde em geral (22). Várias atividades farmacológicas de *C. edulis* já foram descritas, incluindo atividades antiproliferativas (13), neurológicas (30), antimicrobianas (33) e antioxidantes (34). Assim, torna-se relevante determinar os teores destes compostos, sabendo que existem alguns fatores que afetam a extração eficaz dos polifenóis em matérias vegetais, nomeadamente a natureza do solvente extrator. Levando essa questão em consideração, neste estudo utilizaram-se três solventes não tóxicos para avaliar fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante, e os resultados são apresentados na Tabela 4.

No que toca aos compostos bioativos e atividade antioxidante (Tabela 4), verificaram-se maiores quantidades de fenólicos totais e flavonoides totais nos extratos hidroalcoólicos, seguidos dos extratos etanólicos e aquosos, respectivamente. O mesmo comportamento foi observado para a atividade antioxidante.

Nas últimas décadas, muitos investigadores destacaram a importância das condições de otimização do processo de extração para aumentar os rendimentos dos extratos, nomeadamente na recuperação da maior quantidade de compostos bioativos. Recentemente, Laloo et al. (34) examinaram a interferência da natureza do solvente, do

pH da solução, do tempo e da temperatura de extração na obtenção de um maior rendimento e, conseqüentemente, maior teor de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante das folhas de *C. edulis*. Segundo os mesmos autores, uma extração com metanol produz maiores rendimentos, com teores de fenólicos totais e atividade antioxidante superiores. Mudimba e Nguta (13) através do uso de n-hexano, etanol, acetona e água observaram diferenças significativas entre os teores de compostos bioativos extraídos de folhas de *C. edulis*. Neves et al. (9) atestaram que o uso de uma mistura de água:etanol (1:1) nos extratos de folhas, flores e frutos de *C. edulis*, apresentavam maior recuperação quantitativa. Sendo ainda muito precoce afirmar qual o melhor solvente extrator tendo em consideração a natureza química dos diferentes grupos fitoquímicos presentes numa determinada espécie vegetal, este estudo mostrou-se inovador, pois, pela primeira vez no mesmo estudo, foram comparados solventes “verdes” e sustentáveis. O número de pesquisas que utilizam solventes “verdes” tem aumentado drasticamente, pois integra um dos principais objetivos da Agenda 2030 (22, 35, 36).

Discutindo um pouco mais os resultados apresentados na Tabela 4, o extrato hidroalcoólico dos frutos de *C. edulis* apresentou superioridade nos FT (311,7 mg EAG/g) e nos FLT (50,43 EAG mg EC/g), comparativamente com o extrato etanólico (FT: 252,3 mg EAG/g; FLT: 36,27 mg EC/g) e aquoso (FT: 156,7 mg EAG/g; FLT: 26,75 mg EC/g), respetivamente. Fenólicos totais semelhantes foram relatados em extrato dos frutos de *C. edulis* colhidos em 3 locais no sul de Portugal, usando uma mistura aquosa de acetona como solvente (80%; 1:40, m/v) (24), enquanto um valor consideravelmente menor foi obtido no extrato hidroalcoólico de frutos de *C. edulis* provenientes da costa ocidental de Portugal (9). Em contraste, um estudo semelhante conduzido na casca e polpa do fruto de *C. edulis* indicou teores idênticos de FT nas cascas (272,82 mg EAG/g), mas teores mais baixos de FLT (1,58 mg EC/g), observando-se maior recuperação com etanol em detrimento da água e da acetona como solventes (8).

Em suma, nenhum solvente é capaz de extrair totalmente os diversos fitoquímicos devido às suas características químicas específicas. Além disso, além da eficiência do solvente, a quantidade de compostos bioativos nas plantas varia com base no órgão da planta, composição do solo, condições climáticas, entre outros (4). Por exemplo, Pereira et al. (24) observaram que as partes aéreas de *C. edulis* colhidas durante o verão exibiram teores de fenólicos totais superiores em comparação com outras partes vegetais da espécie, independentemente do tipo de solvente usado para extração.

Pela análise das metodologias usadas para avaliar a atividade antioxidante, os resultados obtidos pelo método de DPPH• foram diretamente proporcionais aos teores de compostos bioativos, observando-se superioridade de atividade no extrato hidroalcoólico (95,89%), seguido do etanólico (76,50%) e aquoso (21,87%), respetivamente. Da mesma forma, o extrato aquoso apresentou uma atividade antioxidante mais baixa no método FRAP (19,11%), mas com uma menor significância estatística.

Face ao exposto, torna-se evidente o recurso a diferentes métodos para a avaliação da atividade antioxidante. Os métodos indiretos estão atualmente bem desenvolvidos e são adequados, de fácil manipulação e, apesar de não apresentarem a mesma especificidade, também permitem uma avaliação da atividade antioxidante adequada. No entanto, pode-se sugerir uma análise mais exaustiva, através de uma correlação entre os resultados obtidos por métodos indiretos e os obtidos por métodos diretos, de forma a garantir uma maior segurança analítica dos resultados em ensaios antioxidantes. Tendo em consideração todos os resultados obtidos, sugerem-se mais estudos sobre o perfil fenólico desta espécie de forma a validar as condições de extração ideais para potenciar a valorização deste fruto.

#### **4. Conclusões**

Este trabalho representou uma primeira tentativa de estudar e valorizar os frutos de *C. edulis* presentes na costa oeste do norte de Portugal. Os frutos apresentaram um perfil nutricional adequado, semelhante a certos vegetais regularmente consumidos e halófitas comestíveis, representando um bom suprimento de hidratos de carbono, proteínas e minerais. Os extratos também mostraram que esta espécie pode ser uma fonte rica em compostos fenólicos, reconhecidos pelas suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. A exploração otimizada deste material vegetal subvalorizado e invasor pode, mediante os propósitos pretendidos, depender do uso dos diferentes órgãos vegetais da *C. edulis*. Além disso, a variabilidade espacial deve ser considerada, dado o seu impacto nos teores de nutrientes. No geral, o material geralmente desperdiçado desta planta invasora deve ser avaliado como uma fonte nutricional adequada, com potenciais aplicações biotecnológicas nas indústrias alimentícia e nutracêutica, ou seja, como um ingrediente para produtos alimentícios de valor agregado, conservantes e/ou funcionais.

## **5. Agradecimentos**

Este Trabalho de Projeto não poderia ficar completo sem um enorme agradecimento à minha orientadora Professora Doutora Ana F. Vinha e coorientadora Professora Doutora Carla Sousa, as quais se mostraram sempre totalmente disponíveis para colaborarem na realização do mesmo.

Deixo assim, desta forma tão simples, todo o meu reconhecimento.

## 6. Referências bibliográficas

- (1) Drius M, Jones L, Marzialetti F, De Francesco MC, Stanisci A, Carranza ML. Not just a sandy beach. The multi-service value of Mediterranean coastal dunes. *Sci Total Environ*. 2019;668:1139-55. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.02.364.
- (2) Máximo P, Ferreira LM, Branco PS, Lourenço A. Invasive plants: turning enemies into value. *Molecules*. 2020;25(15):3529. doi: 10.3390/molecules25153529.
- (3) Vinha AF, Soares MO. Berries of shrimp (*Corema album*): biological properties and future functionalities. *International Journal of Biological and Natural Sciences*. 2024;4(2):1-11. doi: 10.22533/at.ed.813422408024.
- (4) Akinyede KA, Ekpo OE, Oguntibeju OO. Ethnopharmacology, therapeutic properties and nutritional potentials of *Carpobrotus edulis*: a comprehensive review. *Sci Pharm*. 2020;88(3):39. doi: 10.3390/scipharm88030039.
- (5) Oliveira D, Hayrapetyan R, Dias MI, Barros L, Séverin I, Custódio L, et al. Protective properties of the edible halophyte *Carpobrotus edulis* (L.) N.E.Br. towards neoformed food contaminants-related oxidative stress and genotoxicity. *Food Biosci*. 2024;61. doi: 10.1016/j.fbio.2024.104447.
- (6) Campoy JG, Acosta AT, Affre L, Barreiro R, Brundu G, Buisson E, et al. Monographs of invasive plants in Europe: *Carpobrotus*. *Botany Letters*. 2018;165(4):440-75. doi: 10.1080/23818107.2018.1487884.
- (7) Broomhead NK, Moodley R, Jonnalagadda SB. Chemical and elemental analysis of the edible fruit of five *Carpobrotus* species from South Africa: assessment of nutritional value and potential metal toxicity. *Int J Environ Health Res*. 2020;30(4):357-71. doi: 10.1080/09603123.2019.1595539.
- (8) Castañeda-Loaiza V, Placines C, Rodrigues MJ, Pereira C, Zengin G, Uysal A, et al. If you cannot beat them, join them: exploring the fruits of the invasive species *Carpobrotus edulis* (L.) N.E. Br as a source of bioactive products. *Industrial Crops and Products*. 2020;144:112005. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.112005.
- (9) Neves M, Antunes M, Fernandes W, Campos MJ, Azevedo ZM, Freitas V, et al. Physicochemical and nutritional profile of leaves, flowers, and fruits of the edible

- halophyte chorão-da-praia (*Carpobrotus edulis*) on Portuguese west shores. *Food Biosci.* 2021;43(6):101288. doi: 10.1016/j.fbio.2021.101288.
- (10) Garcia-Oliveira P, Carreira-Casais A, Pereira E, Dias MI, Pereira C, Calhella RC, et al. From tradition to health: chemical and bioactive characterization of five traditional plants. *Molecules.* 2022;27(19):6495. doi: 10.3390/molecules27196495.
- (11) Omoruyi SI, Enogieru AB, Ekpo OE. *In vitro* evaluation of the antiproliferative activity of *Carpobrotus edulis* on human neuroblastoma cells. *J Herb Med.* 2021;30:100519. doi: 10.1016/j.hermed.2021.100519.
- (12) Rocha MI, Rodrigues MJ, Pereira C, Pereira H, da Silva MM, Neng NR, et al. Biochemical profile and *in vitro* neuroprotective properties of *Carpobrotus edulis* L., a medicinal and edible halophyte native to the coast of South Africa. *S Afr J Bot.* 2017;111:222–31. doi: 10.1016/j.sajb.2017.03.036.
- (13) Mudimba TN, Nguta JM. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological activity of *Carpobrotus edulis*: a global perspective. *The Journal of Phytopharmacology.* 2019;8(3):111–6. doi: 10.31254/phyto.2019.8305.
- (14) Sabiu S, Balogun FO, Amoo SO. Phenolics profiling of *Carpobrotus edulis* (L.) N.E.Br. and insights into molecular dynamics of their significance in type 2 diabetes therapy and its retinopathy complication. *Molecules.* 2021;26(16):4867. doi: 10.3390/molecules26164867.
- (15) Latimer GW, International AO. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International. 19<sup>a</sup> ed. Gaithersburg (MD): AOAC International; 2012.
- (16) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food energy - methods of analysis and conversion factors. *FAO Food and Nutrition Paper (77).* 2003.
- (17) Vinha AF, Costa AS, Espírito Santo L, Ferreira DM, Sousa C, Pinto E, et al. High-value compounds in papaya by-products (*Carica papaya* L. var. Formosa and Aliança): potential sustainable use and exploitation. *Plants.* 2024;13(7):1009. doi: 10.3390/plants13071009.
- (18) Shantha NC, Ackman RG. Nervonic acid versus tricosanoic acid as internal standards in quantitative gas chromatographic analyses of fish oil longer-chain n-3

- polyunsaturated fatty acid methyl esters. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 1990;533:1-10. doi: 10.1016/S0378-4347(00)82182-9.
- (19) Fernandes L, Pereira JA, Lopéz-Cortés I, Salazar DM, Ramalhosa E, Casal S. Fatty acid, vitamin E and sterols composition of seed oils from nine different pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. J Food Compost Anal. 2015;39:13-22. doi: 10.1016/j.jfca.2014.11.006.
- (20) Nunes MA, Costa AS, Bessada S, Santos J, Puga H, Alves RC, et al. Olive pomace as a valuable source of bioactive compounds: a study regarding its lipid- and water-soluble components. Sci Total Environ. 2018;644:229-36. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.350.
- (21) Costa AS, Alves RC, Vinha AF, Barreira SV, Nunes MA, Cunha LM, et al. Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. Industrial Crops and Products. 2014;53:350-7. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.01.006.
- (22) Vinha AF, Costa AS, Pimentel FB, Espírito Santo L, Sousa C, Freitas M, et al. Bioactive compounds and scavenging capacity of *Adansonia digitata* L. (baobab fruit) pulp extracts against ROS and RNS of physiological relevance. Appl Sci. 2024;14(8):3408. doi: 10.3390/app14083408.
- (23) Kovacevic V, Sudaric A, Antunovic M. Mineral nutrition. Em: El-Shemy HA, editor. Soybean physiology and biochemistry. London (GB): IntechOpen; 2011. p. 389-427.
- (24) Pereira CG, Neng NR, Custódio L. From threat to opportunity: harnessing the invasive *Carpobrotus edulis* (L.) N.E.Br for nutritional and phytotherapeutic valorization amid seasonal and spatial variability. Mar Drugs. 2023;21(8):436. doi: 10.3390/md21080436.
- (25) Jing T, Li J, He Y, Shankar A, Saxena A, Tiwari A, et al. Role of calcium nutrition in plant physiology: advances in research and insights into acidic soil conditions - a comprehensive review. Plant Physiol Biochem. 2024;210:108602. doi: 10.1016/j.plaphy.2024.108602.
- (26) World Health Organization. Guideline: potassium intake for adults and children. Geneva (CH): World Health Organization; 2012.

- (27) D'Elia L, Masulli M, Cappuccio FP, Zarrella AF, Strazzullo P, Galletti F. Dietary potassium intake and risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Nutrients*. 2022;14(22):4785. doi: 10.3390/nu14224785.
- (28) United States Department of Agriculture. Composition of foods raw, processed, prepared. Washington (DC): USDA Nutrient Database for Standard Reference; 2001.
- (29) Pereira C, Dias MI, Petropoulos SA, Plexida S, Chrysargyris A, Tzortzakis N, et al. The effects of biostimulants, biofertilizers and water-stress on nutritional value and chemical composition of two spinach genotypes (*Spinacia oleracea* L.). *Molecules*. 2019;24(24):4494. doi: 10.3390/molecules24244494.
- (30) Custódio L, Ferreira AC, Pereira HG, Silvestre L, Vizetto-Duarte C, Barreira LA, et al. The marine halophytes *Carpobrotus edulis* L. and *Arthrocnemum macrostachyum* L. are potential sources of nutritionally important PUFAs and metabolites with antioxidant, metal chelating and anticholinesterase inhibitory activities. *Botanica Marina*. 2012;55(3):281-8. doi: 10.1515/bot-2012-0098.
- (31) Marangoni F, Agostoni C, Borghi C, Catapano AL, Cena H, Ghiselli A, et al. Dietary linoleic acid and human health: focus on cardiovascular and cardiometabolic effects. 2020;292:90-8. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.11.018.
- (32) Bajramova A, Spéjel P. A comparative study of the fatty acid profile of common fruits and fruits claimed to confer health benefits. *J Food Compost Anal*. 2022;112:104657. doi: 10.1016/j.jfca.2022.104657.
- (33) Martins A, Vasas A, Viveiros M., Molnár J, Hohmann J, Amaral L. Antibacterial properties of compounds isolated from *Carpobrotus edulis*. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;37(5):438-44. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2011.01.016.
- (34) Laloo N, Terblanche U, Ssemakalu CC, Pillay M. Effect of solvent, pH, extraction time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant activity of *Carpobrotus edulis*. *Journal of Phytology*. 2024;16:1-7. doi: 10.25081/jp.2024.v16.8393.
- (35) González-Campos JB, Pérez-Nava A, Valle-Sánchez M, Delgado-Rangel LH. Deep eutectic solvents applications aligned to 2030 United Nations Agenda for

Sustainable Development. Chem Eng Process. 2024;199(25):109751.  
doi: 10.1016/j.cep.2024.109751.

- (36) Freire MG, Coutinho JA. A closer look on sustainable solvents and processes. Curr Opin Green Sustain Chem. 2019;18:A4-A6. doi: 10.1016/j.cogsc.2019.07.003.

## 7. Figuras e tabelas



**Figura 1** - Morfologia das flores de *Carpobrotus edulis* e área de distribuição costeira.

**Tabela 1** - Resultados da composição centesimal dos frutos de *C. edulis* (g/100 g).

	Humidade	Cinzas	Proteína	Gordura	H. Carbono
Frutos	78,2 ± 0,05	10,9 ± 0,09	22,8 ± 0,10	4,5 ± 0,15	60,5 ± 0,20

Média ± DP (desvio padrão) de três repetições (n = 3).

**Tabela 2** - Conteúdo total de minerais essenciais, oligoelementos não essenciais e tóxicos e macroelementos em frutos de *C. edulis*.

<b>Minerais essenciais</b>	
Fe (µg/g)	32,20 ± 0,42
Cu (µg/g)	5,89 ± 0,17
Zn (µg/g)	25,06 ± 0,41
Mn (µg/g)	7,05 ± 0,36
Mo (µg/g)	n.d.
Co (ng/g)	< LoD
Cr (ng/g)	n.d.
Se (µg/g)	0,016 ± 0,010
<b>Oligoelementos não essenciais e tóxicos</b>	
Al (µg/g)	10,4 ± 2,0
As (ng/g)	12,8 ± 5,1
B (µg/g)	< LoD
Ba (ng/g)	n.d.
Be (ng/g)	< LoD
Bi (ng/g)	n.d.
Cd (ng/g)	0,55 ± 0,06
Cs (ng/g)	< LoD
Li (ng/g)	11,2 ± 3,1
Ni (µg/g)	n.d.
Pb (ng/g)	< LoD
Rb (µg/g)	14,20 ± 0,29
Sb (µg/g)	n.d.
Sn (ng/g)	101 ± 14
Sr (µg/g)	20,12 ± 0,11
Te (µg/g)	< LoD
Ti (µg/g)	n.d.
V (µg/g)	< LoD
W (µg/g)	< LoD
Zr (ng/g)	24,39 ± 1,2
<b>Macroelementos</b>	
Ca (mg/g)	12,44 ± 0,89
K (mg/g)	1,24 ± 0,40
Mg (mg/g)	2,98 ± 0,25
Na (µg/g)	< LoD

Resultados expressos em µg/g (Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, Se, Al, B, Ni, Rb, Sb, Sr, Te, Ti, V, W e Na), ng/g (Co, Cr, As, Ba, Be, Bi, Cd, Cs, Li, Pb, Sn e Zr) e mg/g (Ca, K e Mg) de peso seco. Os valores são apresentados como média ± desvio padrão (n = 3). LoD - Nível de Detecção. n.d. - não detetado.

**Tabela 3** - Perfil de ácidos gordos (%) obtido dos frutos de *C. edulis* colhidos na costa oeste do norte de Portugal.

Ácidos gordos		Frutos
Decanóico	C11:0	n.d.
Láurico	C12:0	0,19 ± 0,003
Mirístico	C14:0	0,66 ± 0,004
Palmítico	C16:0	12,41 ± 0,012
Palmitoleico	C16:1	0,12 ± 0,005
Heptadecanóico	C17:0	n.d.
Esteárico	C18:0	2,96 ± 0,008
Oleico	C18:1n9c	17,51 ± 0,030
Linoleico <sup>1</sup>	C18:2n6c <sup>1</sup>	52,08 ± 0,015
Eicosanóico	C20:0	1,71 ± 0,006
$\alpha$ -Linolénico <sup>1</sup>	C18:3n3 <sup>1</sup>	2,10 ± 0,002
cis-11-Eicosanóico	C20:1n9	0,49 ± 0,001
Docosanóico	C22:0	2,54 ± 0,003
Tricosanóico	C23:0	n.d.
Tetracosanóico	C24:0	n.d.
<b>n6/n3</b>		24,80 ± 0,043
<b>n9/n6</b>		0,346 ± 0,117
<b><math>\Sigma</math>AGS</b>		20,47 ± 0,017
<b><math>\Sigma</math>AGMI</b>		18,12 ± 0,030
<b><math>\Sigma</math>AGPI</b>		54,18 ± 0,015

Resultados expressos como % relativa de ácidos gordos totais. <sup>1</sup>Ácidos gordos essenciais. Os valores são apresentados como média ± desvio padrão (n = 3).  $\Sigma$ AGS - soma de ácidos gordos saturados (C12:0 + C14:0 + C16:0 + C18:0 + C20:0 + C22:0),  $\Sigma$ AGMI - soma de ácidos gordos monoinsaturados (C16:1 + C18:1n9c + C20:1n9) e  $\Sigma$ AGPI - soma de ácidos gordos polinsaturados (C18:2n6c + C18:3n3). n.d. - não detetado.

**Tabela 4** - Quantificação dos compostos bioativos e avaliação da atividade antioxidante de extratos de frutos de *C. edulis*.

Extratos dos frutos	FT (mg EAG/g)	FLT (mg EC/g)	DPPH• (%)	FRAP (%)
Etanólico	252,3 ± 3,05 <sup>b</sup>	36,27 ± 0,76 <sup>b</sup>	76,50 ± 4,52 <sup>b</sup>	20,30 ± 0,39 <sup>b,c</sup>
Aquoso	156,7 ± 4,04 <sup>c</sup>	26,75 ± 0,78 <sup>c</sup>	21,87 ± 0,60 <sup>c</sup>	19,11 ± 0,35 <sup>c</sup>
Hidroalcoólico	311,7 ± 3,78 <sup>a</sup>	50,43 ± 2,08 <sup>a</sup>	95,89 ± 0,75 <sup>a</sup>	47,27 ± 0,73 <sup>a</sup>

Os resultados são expressos em peso seco. Fenólicos totais (FT) expressos em mg EAG/g, flavonoides totais (FLT) expressos em mg EC/g e resultados de DPPH• e FRAP expressos em % de inibição como média ± desvio padrão (n = 3). Em cada coluna, os valores seguidos por letras diferentes para o mesmo ensaio e extrato diferente são significativamente diferentes de acordo com ANOVA seguido pelo teste Tukey (p < 0,05).

## 8. Anexos

**Anexo I - Resumo da publicação “*Carpobrotus edulis* as a facultative halophytic invasive fruit with medicinal properties”.**

**INTERNATIONAL EUROASIA  
Congress on Scientific Researches and Recent Trends 12**

### **CARPOBROTUS EDULIS AS A FACULTATIVE HALOPHYTIC INVASIVE FRUIT WITH MEDICINAL PROPERTIES**

**Carlota M. RODRIGUES**

Faculty of Health Sciences, Fernando Pessoa University, Porto

**Carla SOUSA**

FP-3ID-Institute for Research, Innovation and Development at Fernando Pessoa  
University, Porto

LAQV/REQUIMTE-Department of Chemical Sciences, Faculty of Pharmacy,  
University of Porto

**Ana F. VINHA\***

FP-3ID-Institute for Research, Innovation and Development at Fernando Pessoa  
University, Porto

LAQV/REQUIMTE-Department of Chemical Sciences, Faculty of Pharmacy,  
University of Porto

#### **ABSTRACT**

*Carpobrotus edulis* is a member of the Aizoaceae family. It is a facultative halophytic invasive medicinal and edible succulent plant native to South Africa that is found all over the world. *C. edulis* presents twelve important phytochemical groups, including saponins, chlorides, sulfates, coumarins, flavonoids, alkaloids, anthraquinones, iridoids, cyanogenic glycosides, cardiac glycosides, carbohydrates/glycosides, unsaturated sterols/triterpenoids, and tannins, which display recognized biological properties. *C. edulis* fruits contains high levels of unsaturated fatty acids (linoleic (C18:2 n-6), and oleic (C18:1 n-9). How is it known, a balanced intake of n-6 and n-3 fatty acids may help to avoid multiple illnesses including cancer, cardiovascular disease, inflammatory disease, and autoimmune disease, with a n6/n3 ratio near to 1 being recommended. Thus, some compounds isolated from *C. edulis* fruits possess antimicrobial activity, such as oleanolic acid, which is found to be particularly effective against *S. aureus* and *Enterococcus faecalis*, and the triterpene uvaol, which may have an effect on the modulation of efflux pumps in gram-positive bacteria. Fruits stand out as a promising source of bioactive compounds with antioxidant, anti-inflammatory and, antimicrobial properties. A great diversity of polyphenolic compounds was already detected, namely procyanidins and flavonoids, but many of these are not yet fully characterized. However, more research is needed to describe the compounds individually and, as a result, associate their biological properties. As a result, a practical application of this plant, particularly in food matrices, emerges as an interesting research line. Plant-based foods are becoming increasingly popular among modern customers who are aware of its health benefits and contribution to well-being and a healthy lifestyle.

**Keywords:** *Carpobrotus edulis*; edible fruits; phytochemical profile; biological properties; Antimicrobial activity.