

# **Avaliação da composição química e atividade biológica de duas espécies de trapoeraba, *Commelina erecta* e *Commelina benghalensis***

**Lucas Vinicius Cavichi**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de  
Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e  
Segurança Alimentar no âmbito da dupla diplomação com a  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

Orientado por

**Professora Doutora Joana S. Amaral**

**Doutora Lillian Barros**

**Professora Cristiane Canan**

**Bragança  
2021**

Este trabalho foi realizado no âmbito do projeto bilateral UTFPR/IPB 01/2019-2020-85 “Avaliação da composição química e atividade biológica de plantas alimentícias não convencionais (PANCs) com vista à sua valorização” e financiado por fundos nacionais através da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT. Portugal), no âmbito do Projeto PRIMA Section 2 - Multi-topic 2019: VALUEFARM (PRIMA/0009/2019).



*“Those who are satisfied sit and do nothing. The dissatisfied are the only benefactors in the world. So, God give me the serenity to accept what I cannot change, courage to change what I can and wisdom to know the difference”*

*Walter S. Landor and Reinhold Niebuhr*

## AGRADECIMENTOS

Com a finalização desta tese venho expressar meus sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma contribuíram para a finalização deste projeto como aqueles que de alguma forma colaboraram para formação do meu caráter. De modo particular gostaria de agradecer.

A todo núcleo de pesquisa do **Centro de Investigação da Montanha (CIMO)** pela oportunidade de agregação de conhecimento, em especial a **Ângela Fernandes** por sempre se fazer presente, por toda prontidão e conhecimento transmitido, agradeço a **Ângela Liberal** por toda paciência e compreensão no decorrer do trabalho.

As orientadoras **Dra. Joana Amaral, Dra. Lilian Barros e Dra. Cristiane Canan**, pelo apoio, dedicação e zelo neste trabalho. Através delas, eu me reporto a toda comunidade do **Instituto Politécnico de Bragança (IPB - Portugal)** e a **Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR - Brasil)** pela oportunidade prestada no âmbito do programa de Dupla Diplomação.

Aos meus amigos e veteranos de UTFPR que posteriormente se fizeram presentes no IPB, **Rafael Spréa, Eleomar Junior, Juliana França e Maria Leichtweis** sempre auxiliando e aconselhando para as melhores decisões.

Aos amigos que tive o prazer de conhecer, aprender e conviver, **Gabriel Ribeiro, Lucas Fenato, Nicolas Weyne, Arnado Dias, Gustavo Funchal e Vitoria Melo**.

A todos os amigos que me acompanharam durante toda caminhada acadêmica, em especial à **Gabriel Marques, Cleiton Weschenfelder e Gabriel Stanzione**, por todo suporte e amizade. Agradeço também aos meus amigos **Leonardo Moraes, Bianca Oliveira**, assim como meu sogro **Josemar De Carli e Valci De Carli**, por todo apoio e conselhos.

Deixo registrado o amor incondicional à minha família, em especial aos meus pais **Elaine Cavichi e Marcos Cavichi**, que não se faz aqui presente em vida, porém levo em meu coração e pensamento diariamente. Aos meus irmãos, **João Vitor Cavichi, Rebeca Cavichi e Diogo Sorato**. Aos meus tios **Wellington Pinto, Simone Pinto, Claudete Siqueira e Marcos Siqueira**. Aos meus avós **Ezequiel Pinto e Odete Muniz**. Pessoas a qual expresso imensa gratidão por nunca medirem esforços para que meus sonhos tornassem realidade, além de toda educação, confiança e amor que eternizaram em meu coração, serei eternamente grato. A minha namorada **Cristiane De Carli**, que me acompanha a 6 anos me dando forças para seguir.

Assim finalizo deixando meus agradecimentos a **Deus**, por tudo que tenho e conquistei, pela família, pelos amigos, companheiros que me ajudaram a trilhar este caminho e passar pela época mais difícil vivenciada em minha vida até o momento. Obrigado pelas graças e proteções.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA DE EQUAÇÕES .....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....</b>	<b>x</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xi</b>
<b>1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1. Plantas silvestres fitoterápicas e alimentares.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2. Família Commelinaceae.....</b>	<b>16</b>
1.2.1. <i>Commelina benghalensis</i> .....	17
1.2.2. <i>Commelina erecta</i> .....	18
<b>1.3. Composição química e bioativa.....</b>	<b>19</b>
1.3.1. <i>Terpenos, alcaloides e compostos fenólicos</i> .....	19
1.3.2. <i>Potencial bioativo</i> .....	24
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
<b>2.1. Objetivo geral .....</b>	<b>28</b>
<b>2.2. Objetivos específicos .....</b>	<b>28</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1. Padrões e reagentes .....</b>	<b>31</b>
3.1.1. <i>Análise química e nutricional</i> .....	31
3.1.2. <i>Análise de propriedades bioactivas</i> .....	31
<b>3.2. Preparação das amostras e extratos .....</b>	<b>32</b>
3.2.1. <i>Preparação dos extratos</i> .....	32
<b>3.3. Caracterização nutricional e química .....</b>	<b>33</b>
3.3.1. <i>Composição aproximada</i> .....	33

---

3.3.2.	<i>Açúcares livres</i> .....	33
3.3.3.	<i>Ácidos Orgânicos</i> .....	34
3.3.4.	<i>Ácidos Gordos</i> .....	34
3.3.5.	<i>Tocoferóis</i> .....	35
3.3.6.	<i>Análise de compostos fenólicos não antociânicos e antociânicos</i> .....	36
<b>3.4.</b>	<b>Propriedades bioativas</b> .....	<b>36</b>
3.4.1.	<i>Atividade antioxidante</i> .....	36
3.4.1.1.	<i>Inibição da peroxidação lipídica através de produtos reativos do ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i> .....	36
3.4.1.2.	<i>OxHLIA – ensaio da inibição da hemólise oxidativa</i> .....	37
3.4.2.	<i>Citotoxicidade</i> .....	38
3.4.3.	<i>Atividade anti-inflamatória</i> .....	39
3.4.4.	<i>Atividade antimicrobiana</i> .....	40
3.4.4.1.	<i>Atividade antibacteriana</i> .....	40
3.4.4.2.	<i>Atividade antifúngica</i> .....	41
<b>3.5.</b>	<b>Análise estatística</b> .....	<b>42</b>
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>43</b>
<b>4.1.</b>	<b>Composição nutricional e química</b> .....	<b>44</b>
<b>4.2.</b>	<b>Composição em compostos fenólicos</b> .....	<b>50</b>
<b>4.3.</b>	<b>Propriedades bioativas</b> .....	<b>56</b>
4.3.1.	<i>Atividade antioxidante</i> .....	56
4.3.2.	<i>Atividade citotóxica e anti-inflamatória</i> .....	58
4.3.3.	<i>Atividade antimicrobiana</i> .....	60
<b>5.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>60</b>
<b>5.1.</b>	<b>Considerações finais e perspectivas futuras</b> .....	<b>65</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>67</b>

---

---

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> <i>Commelina benghalensis</i> .....	17
<b>Figura 2.</b> <i>Commelina erecta</i> .....	19
<b>Figura 3.</b> Diferentes classes de alcalóides. ....	20
<b>Figura 4</b> - Estrutura básica dos flavonoides .....	21
<b>Figura 5</b> - Estrutura básica ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos (A) e hidroxicinâmicos (B).....	23
<b>Figura 6</b> - Molécula de Apigenina-6,8-di-C-hexoside. ....	53
<b>Figura 7</b> – Resultados gráficos de OxHLIA para extratos hidroetanólico e aquoso de <i>C. erecta</i> e <i>C. Benghalensis</i> . ....	57

## **LISTA DE EQUAÇÕES**

<b>Equação 1</b> - Hidratos de carbono em g/ 100 g mf. ....	33
<b>Equação 2</b> - Energia total em quilocaloria (kcal). ....	33
<b>Equação 3</b> - Taxa de inibição em ensaio TBARS. ....	37
<b>Equação 4</b> - Percentagem de eritrócitos (PE) no ensaio OxHLIA ....	38
<b>Equação 5</b> - Tempo de atraso da hemólise ....	38

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Compostos presentes nos extratos de <i>Commelina benghalensis</i> . .....	22
<b>Tabela 2.</b> Estudos sobre atividade antimicrobiana dos extratos etanólico da flor e aquoso da folha de <i>Commelina erecta</i> . .....	24
<b>Tabela 3</b> - Atividade antimicrobiana dos extratos etanólico obtidos de folhas fresca e de folhas secas de <i>C. benghalensis</i> avaliada por ensaio de difusão em ágar (diâmetro da zona de inibição (mm)). .....	25
<b>Tabela 4</b> - Composição proximal, humidade e valor energético de partes aéreas de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> (média $\pm$ DP, n=9). .....	44
<b>Tabela 5</b> - Composição proximal. humidade e valor energético de PANCs frequentemente consumidas. ....	45
<b>Tabela 6</b> - Composição de açúcares livres de partes aéreas de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> (média $\pm$ DP, n=9). .....	46
<b>Tabela 7</b> – Composição de ácidos orgânicos partes aéreas <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> . .....	48
<b>Tabela 8</b> - Composição em ácidos gordos (% relativa) das partes aéreas de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> . .....	49
<b>Tabela 9</b> - Tocoferóis presentes em partes aéreas de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> (média $\pm$ DP, n=3). .....	50
<b>Tabela 10</b> - Tempo de retenção (Rt), comprimentos de onda de absorção máxima ( $\lambda_{max}$ ) e dados espectrais de massa dos compostos fenólicos presentes nos extratos de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> . .....	54
<b>Tabela 11</b> – Quantificação (mg/g de extrato) dos compostos fenólicos presentes nos extratos de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> (identificação dos picos como consta na Tabela 10). .....	55
<b>Tabela 12</b> - Atividade antioxidante dos extratos obtidos das partes aéreas de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> (média $\pm$ DP, n=9). .....	56
<b>Tabela 13</b> - Citotoxicidade em linhas celulares dos extratos obtidos de partes edíveis de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> . .....	58
<b>Tabela 14</b> - Citotoxicidade em linhas não celulares de partes edíveis de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> .....	59
<b>Tabela 15</b> - Atividade anti-inflamatória de partes edíveis de <i>C. erecta</i> e <i>C. benghalensis</i> .....	60

**Tabela 16** - Atividade antibacteriana do extrato hidroetanólico e aquoso de *C. erecta* e *C. benghalensis*..... 62

**Tabela 17** - Atividade antifúngica do extrato hidroetanólico e aquoso de *C. erecta*. e *C. benghalensis* ..... 63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAPH	2,2'-Azobis(2-metilpropionamida) di-hidroclorido
ABTS	Ácido 2.2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemist</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
C	Carbono
CG/MS	<i>Gas chromatography–mass spectrometry</i>
CIMO	Centro de investigação de montanha
CMB	Concentração mínima bactericida
CMF	Concentração mínima fungicida
CMI	Concentração mínima inibitória
DAD	Detetor de díodos
DMEM	Meio de cultura Dulbecco Modified Eagle
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo
EC50	Concentração de extrato correspondente a 50% da atividade antioxidante
ECACC	<i>European Collection of Animal Cell Culture</i>
EDTA	Ácido etilenediaminatetra acético
ESI	Ionização por electrospray
FAME	Éster metílico de ácidos gordos
FBS	Soro fetal bovino
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fe	Ferro
FeSO4	Sulfato de ferro
FFC	<i>Funcional Food Center</i>
FID	Detetor de ionização de chama
<i>g</i>	Força <i>g</i> (unidade de rotação)
GC	Cromatografia gasosa
GC-FID	<i>Gas Chromatography coupled with Flame Ionization Detector</i>
GI <sub>50</sub>	Concentração que inibe 50% do crescimento celular
HBSS	Solução salina equilibrada de Hank
HCT15	Carcinoma do cólon

---

HeLa	Carcinoma cervical
HepG2	Carcinoma hepatocelular
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência <i>High Performance Liquid Chromatography coupled with a</i>
HPLC-DAD-ESI/MS	<i>diode detector and mass spectrometry with an electrospray</i> <i>ionization source</i>
HPLC-RI	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de índice de refração
iNOS	<i>Inducible nitric oxide synthase</i>
INT	Cloreto de <i>p</i> -iodonitrotetrazólico
IPB	Instituto Politécnico de Bragança
IR	Infravermelho
K	Potássio
kV	Quilovolt
LPS	Lipopolissacarídeos
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
MA	Ágar malte
MCF7	Carcinoma mamário
MDA	Malodialdeído
<i>mf</i>	Massa fresca
Mg	Magnésio
mM	Milimol
MS	Espetrometria de massa
<i>ms</i>	Massa seca
MS <sup>2</sup>	Fragmentação do ião molecular
Na	Sódio
NCTC	<i>National Collection of Type Cultures</i>
nd	Não detectado
NED	Hidrocloreto de N-(1-naftil) etilenodiamina
NO	Óxido nítrico
O	Oxigênio
OxHLIA	Inibição da hemólise oxidativa

---

P	Porcentagem da população de eritrócitos
P	Potássio
<i>p/v</i>	Peso/volume
PAC	Proantocianidinas
PANC	Planta Alimentar Não Convencional
PBS	Tampão fosfato-salino
PLP2	<i>Porcine liver primary cell culture</i>
R <sup>2</sup>	Coefficiente de correlação
RI	Índice de refração
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
<i>rpm</i>	Rotações por minuto
RPMI	Meio de cultura Roswell Park Memorial Institute
SRB	Sulforrodamina B
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Inibição da formação de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TIC	<i>Total ion chromatogram</i>
Tr	Tempo de retenção
Tris	Tris (hidroximetil) aminometano
TSB	Caldo tríptico de soja
UE	União europeia
UFC	Unidade formadora de colônia
UFLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência
UFLC-DAD	Cromatografia líquida de ultra rápida acoplada a um detetor de díodos
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UV-Vis	Radiação ultravioleta-visível
V	Volt
<i>v/v</i>	Volume/volume
Zn	Zinco
$\lambda_{\max}$	Comprimento de onda de absorção máxima

## RESUMO

Ao longo dos séculos, as plantas silvestres têm sido utilizadas por diferentes culturas como recursos medicinais e alimentares dada a sua composição química e nutricional rica em compostos com propriedades funcionais. Nos últimos anos, dada a crescente procura por parte dos consumidores aliada a novas tendências gastronômicas e finalidades industriais, tem havido um aumento de interesse neste tipo de plantas bem como por compostos bioativos extraídos a partir de fontes naturais. A utilização de plantas silvestres na alimentação, nomeadamente de plantas alimentares não convencionais (PANCs), representa uma fonte de subsistência para comunidades rurais, sendo atualmente consideradas uma alternativa sustentável e que permite a diversificação alimentar e o consumo por um número crescente de pessoas. Por isso, diferentes PANCs têm sido alvo de diversos estudos, uma vez que, para algumas espécies, o conhecimento quanto ao seu valor nutricional, químico e à presença de compostos bioativos é ainda escasso. Assim, o presente estudo teve como objetivo principal contribuir para o conhecimento de duas espécies de ervas daninhas vulgarmente conhecidas como Trapoeraba, *Commelina erecta* e *Commelina benghalensis*, com vista ao estímulo da sua inclusão numa dieta saudável e balanceada. Para o efeito foi avaliado o perfil nutricional (proteínas, lipídios, cinza, hidratos de carbono e energia) e químico (açúcares livres, ácidos orgânicos, ácidos gordos, tocoferóis e compostos fenólicos) de diferentes partes das espécies referidas (caule, folha e flor) e em diferentes estádios de desenvolvimento (pré e pós-floração), bem como as propriedades bioativas (atividades antioxidante, citotóxica e antimicrobiana) de diferentes extratos das mesmas.

As trapoerabas apresentaram um interessante perfil nutricional, que se revelou similar ao descrito para PANC's popularmente consumidas, apresentando os glúcidos como os macronutrientes encontrados em maior quantidade. Foram detetados 4 ácidos orgânicos, 18 ácidos gordos, maioritariamente PUFA, e tendo sido identificado a presença de todas as isoformas de tocoferol. No que respeita o teor de tocoferóis, este foi particularmente elevado na amostra de folha pós-floração de *C. benghalensis*. Quanto à composição em compostos fenólicos, foram detetados 13 compostos. Entre eles vários derivados de apigenina, composto com potencial bioativo, tendo sido esta a aglicona com maior frequência entre as partes edíveis avaliadas. Ambas as espécies apresentaram resultados promissores no que respeita a avaliação de bioatividades, especialmente para a atividade antimicrobiana, na qual todas as partes avaliadas demonstraram eficácia

contra bactérias e fungos, com algumas amostras a revelaram atividade superior aos dois aditivos alimentares testados como controlo positivo. De salientar ainda os resultados de citotoxicidade obtidos para a linha celular de cancro de mama (MCF-7) para o extratos hidroetanólico da flor.

Em suma, os resultados obtidos suportam o uso das trapoerabas em medicina tradicional, bem como das folhas e caules na alimentação. Desta forma, pode ser interessante quer o desenvolvimento de estudos adicionais com vista ao seu possível uso com finalidades conservantes quer a promoção da sua inserção em novos pratos gastronómicos de modo a retirar maior proveito do seu potencial nutricional e bioativo.

**Palavras-chave:** *Commelina erecta*; *Commelina benghalensis*; Composição nutricional; Compostos fenólicos; Bioatividade.

## ABSTRACT

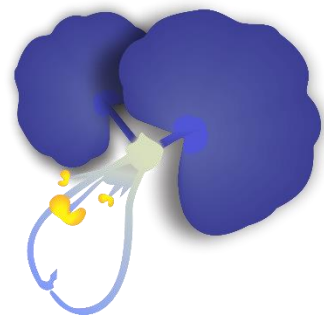
Over the centuries, wild plants have been used by different cultures as medicinal and food resources given their chemical and nutritional composition rich in compounds with functional properties. In recent years, given the growing consumer demand coupled with new gastronomic trends and industrial purposes, there has been an increase in interest in this type of plants as well as bioactive compounds extracted from natural sources. The use of wild plants in food, including unconventional food plants (UFPs), represents a source of livelihood for rural communities, is currently considered a sustainable alternative that allows food diversification and consumption by an increasing number of people. Therefore, different UFPs have been the target of several studies, since, for some species, the knowledge about their nutritional value, chemical and the presence of bioactive compounds is still scarce. Thus, the main objective of this study was to contribute to the knowledge of two weed species commonly known as Trapoeraba, *Commelina erecta* and *Commelina benghalensis*, in order to stimulate their inclusion in a healthy and balanced diet. For this purpose, the nutritional profile (proteins, lipids, carbohydrate, ash and energy) and chemical (free sugars, organic acids, fatty acids, tocopherols and phenolic compounds) of different parts of the referred species (stem, leaf and flower) were evaluated and at different stages of development (pre- and post-flowering), as well as bioactive properties (antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities) of different extracts thereof.

The trapoerabas presented an interesting nutritional profile, which was similar to the one described for PANC's popularly consumed, presenting the sugars as the macronutrients found in greater quantity. Four organic acids, 18 fatty acids, mostly PUFA, were detected and all tocopherol isoforms were identified. As regards the tocopherol content, this was particularly high in the post-flowering leaf sample of *C. benghalensis*. As for the composition in phenolic compounds, 13 compounds were detected. Among them several apigenin derivatives, a compound with bioactive potential, this was the agglutination with greater frequency between the evaluated edible parts. Both species have shown promising results in the evaluation of bioactivities, especially for antimicrobial activity, where all evaluated parties have demonstrated efficacy against bacteria and fungi, with some samples showed higher activity than the two food additives

tested as positive control. The results of cytotoxicity obtained for breast cancer cell line (MCF-7) for hydroethanolic extracts of the flower should also be highlighted.

In short, the results obtained support the use of trapoerabas in traditional medicine, as well as leaves and stems in food. In this way, it may be interesting to develop additional studies with a view to its possible use for preservative purposes, or to promote its inclusion in new gastronomic dishes in order to take greater advantage of its nutritional and bioactive potential.

**Keywords:** *Commelina erecta*; *Commelina benghalensis*; Nutritional composition; Phenolic compounds; Bioactivity.



## **1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### 1.1. Plantas silvestres fitoterápicas e alimentares

A designação “*plantas silvestres*” é dada as plantas que se desenvolvem sem cultivo e de maneira espontânea (Łuczaj et al., 2012). Desde tempos ancestrais este tipo de plantas desempenham um papel importante em diferentes culturas, através da sua utilização tradicional na alimentação quotidiana e na fitoterapia (Alam et al., 2020), a qual compreende a interação entre duas áreas de estudo distintas, a botânica e a medicina, tendo em vista o tratamento de enfermidades com recurso à utilização de plantas, sejam elas inteiras ou suas partes constituintes (Wang et al., 2020). A utilização de plantas silvestres com finalidade fitoterápica e alimentar encontra-se difundida em diversas culturas, onde tal prática parece estar ligada precisamente a fatores culturais, em que os conhecimentos são passados de geração em geração, ou a questões socioeconómicas (Khan et al., 2020; Redzic et al., 2010; Shabab et al., 2021). Por outro lado, no contexto atual da sociedade moderna, considerando que os produtos oriundos de plantas são frequentemente designados como “naturais”, também o fator psicológico contribui para a sua elevada procura por parte dos consumidores, uma vez que estes associam a generalidade dos produtos naturais a uma maior segurança e qualidade do produto (Devia et al., 2020; Khan et al., 2020; Ng et al., 2020).

No entanto, é de referir que o desconhecimento dos compostos presentes em determinadas espécies de plantas silvestres, pode dar origem a distúrbios toxicológicos associados a possíveis efeitos sinérgicos ou à sua potencialização aquando da combinação dos referidos compostos naturais com outros medicamentos/tratamentos convencionais, podendo inclusivamente ocasionar o óbito em situações mais severas (Estevam et al., 2016; Ng et al., 2020). Assim, a identificação e quantificação dos compostos presentes nas plantas silvestres assume um papel fundamental na garantia da segurança dos consumidores. Adicionalmente, o conhecimento da composição química de espécies de plantas silvestres ainda pouco estudadas é igualmente relevante para o desenvolvimento económico e medicinal a nível mundial (Nascimento et al., 2015; Wang et al., 2020), uma vez que, cerca de 50% dos fármacos atualmente produzidos e comercializados possuem compostos oriundos de plantas (Teng & Ye, 2015). Além disso, para além de serem utilizadas na medicina tradicional ou na indústria farmacêutica, diversas plantas silvestres são ainda detentoras de um perfil nutricional de interesse.

Nos últimos anos tem-se assistido a uma crescente procura por plantas silvestres alimentares, as quais têm ganho destaque em países desenvolvidos, particularmente na

Europa, como consequência de novas tendências gastronômicas contemporâneas (Geraci et al., 2018). Assim, a inserção destes produtos nas dietas convencionais e eventualmente no mercado é uma alternativa cada vez mais considerada, dada a sua composição rica em compostos de interesse do ponto de vista nutricional e bioativo, sendo capazes de auxiliar na suplementação de vitaminas e minerais (Ceccanti et al., 2020), além de contribuírem para a inibição do *stress* oxidativo (Hernández et al., 2015; Mbemya et al., 2017) e para a prevenção de doenças como Alzheimer (Hernández et al., 2015), infertilidade (Mbemya et al., 2017), HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) (Sedano-Partida et al., 2020), fibrose hepática (Ginsburg et al., 2009) e diversos tipos de carcinoma (Graham et al., 2000; Malami et al., 2020; Siew et al., 2019; Silva et al., 2015).

O interesse por fitoquímicos presentes em plantas silvestres alimentares tem aumentado também devido à sua possível utilização em alimentos funcionais (Ceccanti et al., 2020). Segundo o *Functional Food Center* (FFC), um alimento funcional é definido como sendo um alimento natural ou processado que contenha compostos bioativos, não tóxicos e eficazes, conhecidos ou desconhecidos, os quais forneçam benefícios comprovados e documentados para o tratamento, gestão ou prevenção de doenças crônicas (Martirosyan & Singh, 2015). Deste modo, a ciência alimentar funcional dá-se pela união da nutrição com a ciência dos alimentos e medicina, uma vez que representa um elo entre alimentos e fármacos (Martirosyan & Singh, 2015). Entretanto, a procura por plantas promissoras para o desenvolvimento de medicamentos e/ou ao desenvolvimento de alimentos funcionais, não é suprida face à oferta e procura que o mercado proporciona (Wang et al., 2020), o que pode estar relacionado com a dificuldade de proliferação de certas plantas em solos e climas heterógenos. Deste modo, estudos direcionados para a utilização alimentar e fitoterápica de plantas silvestres são de extrema importância, uma vez que este tipo de plantas possui a capacidade de se adaptar a diversos meios, sob os mais variados tipos de limitações de crescimento e desenvolvimento, com níveis relativamente baixos de exigências fisiológicas (Gazziero et al., 2015).

Plantas silvestres pertencentes às famílias Asteraceae, Amaranthaceae, Portulacaceae, Cyperaceae, Malvaceae, Cucurbitaceae e Commelinaceae, têm evidenciado a presença de compostos fitoquímicos interessantes do ponto de vista nutricional e capazes de auxiliar no tratamento de determinadas doenças (Njamen et al., 2013; Sousa et al., 2011). Dada a escassez de estudos/dados relativos à composição nutricional e química, de duas espécies de plantas silvestres pertencentes à família

Commelinaceae, nomeadamente *Commelina erecta* e *Commelina benghalensis* foram selecionadas para a realização do presente estudo. Apesar de frequentemente associada a utilizações fitoterápicas, a espécie *C. erecta* apresenta ainda indícios de poder ser considerada como planta alimentar não convencional (PANC), dada a sua utilização em forma de salada ou ainda em conservas (Jacob *et al.*, 2018). Assim como *C. erecta*, a espécie *C. benghalensis* é maioritariamente referida pelas suas valências terapêuticas, podendo contudo ser consumida em forma de vegetal (Orni *et al.*, 2018).

## 1.2. Família Commelinaceae

A família Commelinaceae é composta por cerca de 41 géneros e 650 espécies (Faden, 1998) amplamente distribuídas na América tropical, África, Ásia e Austrália (Panigo *et al.*, 2011), possuindo características maioritariamente terrestres ou, em casos raros epífitas, com ciclos de vida perene, e descritas como escandentes dado competirem com outras vegetações. Adicionalmente, são ainda caracterizadas por apresentarem caules herbáceos e carnosos, dispendo de uma diversificada coloração de flores (Estevam *et al.*, 2016; Faden, 2000).

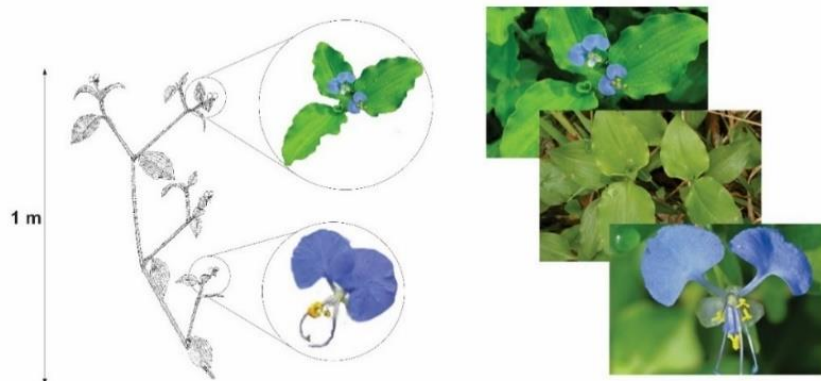
Espécies como *Tradescantia sillamontana*, *Tradescantia pallida*, *Commelina congesta*, *Commelina communis*, *Commelina thomasi*, *Rhoeo spathacea*, pertencentes à família Commelinaceae, encontram-se descritas na literatura como sendo plantas com finalidades alimentares e fitoterápicas devido à presença de compostos químicos com propriedades bioativas, particularmente com atividades anti-inflamatória, bloqueadora de radicais livres, antitumoral, antigenotóxica, antimicrobiana e anti-hipertensiva (Beyra *et al.*, 2004; Estevam *et al.*, 2016; Frankova *et al.*, 2021; Rosales-Reyes *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2015; Yemele *et al.*, 2015). Para além destas propriedades, plantas pertencentes a esta família tal como *C. Communis*, são historicamente usadas como corantes naturais, dada a coloração azul característica conferida pelas antocianinas presentes na flor (Derrick *et al.*, 2017).

A bioatividade associada a diferentes matrizes dá-se pela presença de metabolitos secundários e outros compostos fitoquímicos, tais como flavonoides, saponinas, esteróides, polissacarídeos, alcalóides, polifenóis, entre outros, os quais se apresentam distribuídos por toda a planta ou nas suas partes constituintes (Gong *et al.*, 2020). Plantas pertencentes à família Commelinaceae geralmente apresentam similaridades na sua composição em flavonóides devido à presença de C-glicosídeos, sendo também

encontrados glicosídeos de flavonóis e flavonas comuns (Martinez, 1985). Espécies como *Tradescantia* sp., *Tradescantia zebrina*, *Calisia gracilis* e *Calisia gracilis*, pertencentes a esta família, apresentam relatos da sua utilização pela população sul equatoriana para tratamentos de febre, reumatismo, gangrena, infecções, tonificantes capilares e relaxantes musculares (Tene *et al.*, 2007). Nestes tratamentos são utilizadas partes constituintes das plantas como folhas, hastes e flores (Tene *et al.*, 2007). Porém a escassez de conhecimento técnico-científico direcionado a determinadas espécies da família Commelinaceae, tal como a *C. erecta* e a *C. benghalensis*, faz com que as suas propriedades bioativas, fitoterápicas e alimentares sejam ainda largamente desconhecidas, sendo o seu uso maioritariamente baseado em conhecimentos empíricos de diferentes regiões e etnias.

### 1.2.1. *Commelina benghalensis*

A espécie *Commelina benghalensis* é considerada uma erva daninha, uma vez que afeta diferentes culturas como a de milho, soja, banana, trigo, pastagens e algodão em 29 países distintos. Esta é popularmente conhecida em diferentes regiões como aranha tropical, flor do dia de benghal, godogbo, bulabula, obogu, andarca e marianinha-branca (Barreto, 2005; Lewis, 1985). Apresenta-se amplamente distribuída nas regiões tropicais da Ásia, África, América do Sul, Índias Ocidentais e América do Norte ( Fibrich & Lall, 2020). *C. Benghalensis* possui um ciclo de vida perene, maioritariamente ascendente, chegando a atingir 1 m de altura, com folhas ovais de aproximadamente 2,5 a 7,5 cm de comprimento, com flores azuis dispostas em 3 pétalas com comprimento aproximado de 3 a 4 mm, sementes retangulares e caules rastejantes ao solo (**Figura 1**) (Webster *et al.*, 2005).



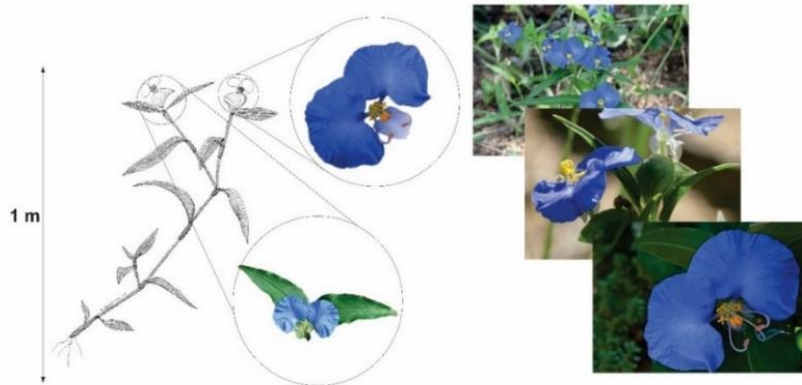
**Figura 1.** *Commelina benghalensis*  
(Fonte: Adaptado de Maia. 2006).

*C. Benghalensis*, ainda conhecida como Trapoeraba, apresenta-se como uma das ervas daninhas de principal impacto económico em culturas agrícolas devido à sua resistência a herbicidas (Oliveira *et al.*, 2019). Apesar de resistente e competitiva, é de raro cultivo, contudo utilizada na alimentação de animais ruminantes através das pastagens, auxiliando na suplementação proteica e de fibras fermentáveis (Lanyasunya *et al.*, 2008). No entanto, o âmbito de maior relevância global relaciona-se com a medicina tradicional sendo citada a sua utilização em países da África Oriental, Nigéria, África Austral, Índia e países Sul Americanos, para o tratamento de enfermidades tais como dor de garganta, infeções oculares, infertilidade em mulheres, cicatrização de feridas e problemas dermatológicos, sendo ainda usado como diurético e anti-inflamatório (Malami *et al.*, 2020; Siew *et al.*, 2019). Estas bioatividades parecem estar relacionadas com a presença de compostos como a luteína, zeaxantina, antocianinas, alcaloides, cera, vitamina C, carboidratos, taninos e balsámos presentes em partes da erva (Bianca Fibrich, 2020; Lakshminarayana *et al.*, 2007). A elaboração da base fitoterápica tradicional e utilização dos metabolitos desta planta ocorre principalmente pela maceração das suas partes constituintes, nomeadamente caule, flor e folhas, tendo sido adicionalmente relatada por tribos do Nepal a utilização do sumo extraído das raízes para o tratamento da indigestão (Manandhar, 1998). Além dos seus efeitos fitoterápicos, a *C. Benghalensis* é citada como sendo uma planta alimentar não convencional (PANC), utilizando-se as suas folhas para consumo após cocção ou em forma de salada (Misra *et al.*, 2016; Seixas *et al.*, 2020).

### 1.2.2. *Commelina erecta*

De igual modo, *C. erecta* também possui um ciclo de vida perene e de grande resistência a herbicidas (Panigo *et al.*, 2012; Timms & Wood, 2020), sendo características desta espécie a presença de folhas pecioladas eretas com disposição de duas pétalas maiores de ápice arredondado e uma menor de ápice agudo, ambas de coloração azul (raramente brancas ou lavanda), contendo sementes elípticas e caule ereto, podendo atingir 1 m de altura (**Figura 2**) (Maia, 2006; Pellegrini & Forzza, 2017). Popularmente conhecida como erva de santa-lúzia, andacá e trapoeraba-azul, *C. Erecta* representa a espécie mais variável dentro da família Commelinaceae, com ampla distribuição desde os Estados Unidos da América até à Argentina, apresentando registro em todos os estados brasileiros, maioritariamente em regiões tropicais e dispendo de flores durante todo o ano

com formação de frutos de dezembro a janeiro (Barreto, 2005; Obermeyer & Faden, 1985).



**Figura 2.** *Commelina erecta*  
(Fonte: Adaptado de Maia, 2006).

Sendo escasso o conhecimento científico da sua composição química e biológica, *C. erecta* apresenta-se difundida principalmente na medicina tradicional brasileira, onde é citada para tratamentos de inflamações e infecções oculares, diabetes, reumatismo, hipertensão e diarreia (Albuquerque *et al.*, 2007; Brandão *et al.*, 2012; Ricardo *et al.*, 2017). Além da relação com a medicina tradicional, *C. erecta* é ainda descrita no âmbito das PANC, uma vez que as partes constituintes da erva, tais como as folhas, caules, flores e raízes podem ser incluídas na alimentação (Bredariol, 2015; Sfoglina *et al.*, 2019). A inserção da *C. erecta* na alimentação convencional é difundida em diferentes regiões do Brasil, existindo relatos desta utilização nos estados de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul (Bredariol, 2015; Huergo *et al.*, 2020; Sfoglina *et al.*, 2019).

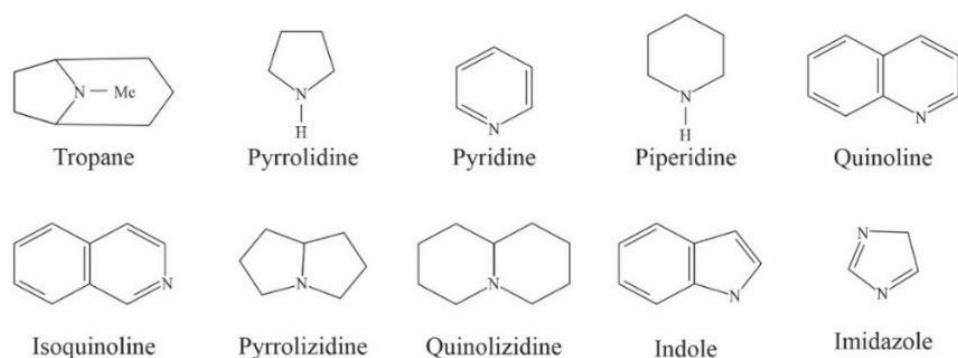
### 1.3. Composição química e bioativa

#### 1.3.1. Terpenos, alcaloides e compostos fenólicos

Os diferentes compostos secundários presentes nas plantas são os principais responsáveis pela sua diversidade química, sendo particularmente relevante referir três grupos quimicamente distintos: os terpenos, alcalóides e compostos fenólicos (Ehlers *et al.*, 2020). Os terpenos representam a classe estrutural mais variada entre os produtos vegetais naturais, os quais são formados pela via do mevalonato por meio do arranjo sucessivo do intermediário pirofosfato de isopentenil (Vizzotto *et al.*, 2010). Podem ser classificados de acordo com a conjugação das moléculas de carbono, em: monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30), tetraterpenos (C40) e

politerpenos (mais de 40 carbonos) (Rezende *et al.*, 2016). Uma ampla gama de funcionalidades é atribuída a este grupo de compostos, variando de acordo com a sua estrutura química básica, incluindo funções hormonais, odoríficas, fotoproteção, atração de polinizadores, entre outras funções. Além de funcionalidades relacionadas ao meio vegetal, têm sido descritas diversas bioatividades, sendo estes precursores da vitamina A e com atividade anticancerígena, antimicrobiana e inseticida, além das finalidades usuais na indústria alimentar, cosmética e farmacêutica. (Rezende *et al.*, 2016; Vizzotto *et al.*, 2010).

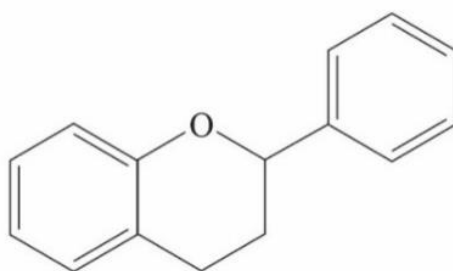
Os alcalóides representam um grupo heterogêneo de compostos orgânicos de estrutura complexa, maioritariamente sintetizados por plantas, e que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio, geralmente num anel heterocíclico, o qual confere um caráter alcalino ao composto (Vizzotto *et al.*, 2010). Trata-se de uma classe de compostos importante, dado o amplo espectro de atividades biológicas a eles associadas e que correspondem princípios ativos de elevada frequência em plantas medicinais, tais como relaxantes musculares, compostos com atividade anestésica, atividade anti-HIV, antitussícos, entre outros (Rezende *et al.*, 2016). Os alcalóides são classificados de acordo com a disposição do aminoácido utilizado na sua formação estrutural bem como do anel nitrogenado formado a partir do mesmo, estando entre os aminoácidos mais comuns os alifáticos e os aromáticos (Rezende *et al.*, 2016). Os alcalóides podem dividir-se em várias classes, incluindo alcalóides com núcleo pirrolidina, piridina e piperidina, com núcleo tropano, com núcleo pirrolizidina, com núcleo quinolizidina, com núcleo quinoleína, com núcleo isoquinoleína, com núcleo indólico e com núcleo imidazol (Figura 3).



**Figura 3.** Diferentes classes de alcalóides.  
(Fonte: Adaptado de Woolley. 2001).

Já os compostos fenólicos podem ser diferenciados de acordo com sua a estrutura química básica em fenóis simples, flavonóides, ligninas, ácidos fenólicos, taninos e estilbenos (Figuroa-Robles *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2017). Estes compostos, de uma forma geral, são considerados metabolitos secundários essenciais para as plantas, sendo produzidos com finalidades diversas, tais como conferir proteção, crescimento e reprodução (Mignet *et al.*, 2013). No entanto, a concentração e o tipo de compostos fenólicos presentes podem sofrer variações promovidas por estímulos tais como stresses sazonais e ambientais (Fotakis *et al.*, 2016). Quando associados a alimentos, os compostos fenólicos podem, conferir adstringência, coloração, aroma e estabilidade oxidativa, entre outros (Soethe *et al.*, 2016). Esta estabilidade é devida, em grande parte, aos grupos aromáticos hidroxilados existentes na sua estrutura química, podendo existir na sua forma livre ou associados a lípidos, hidratos de carbono e ácidos orgânicos (Arruda *et al.*, 2020). A crescente procura por compostos fenólicos oriundos de plantas tem também aumentado nas últimas décadas (Alu'datt *et al.*, 2017; Arruda *et al.*, 2018), dados os seus efeitos fisiológicos associados ao seu potencial de prevenir, retardar ou reverter doenças crônicas (Arruda *et al.*, 2019).

Os flavonóides, grupo pertencente aos compostos fenólicos, são encontrados na forma de glicosídeos ou agliconas, estando amplamente distribuídos no reino vegetal e presentes em partes da plantas como flor, folhas, sementes, entre outras (Angelo & Jorge, 2006). Estes atuam principalmente nas defesa, crescimento e desenvolvimento da planta (Dornas *et al.*, 2008).



**Figura 4** - Estrutura básica dos flavonoides  
(Fonte: Adaptado de Šimunková *et al.*, 2020).

Devido à sua estrutura química comum contendo dois anéis aromáticos ligados por uma cadeia composta por três carbonos (**Figura 4**), bem como à possibilidade de formação de estruturas de ressonância, os flavonóides estão diretamente associados ao potencial antioxidante em alimentos (Carocho & Ferreira, 2012).

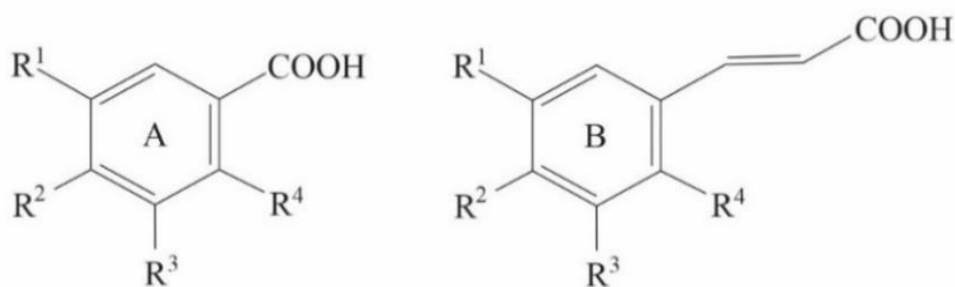
Relativamente à família Commelinaceae, Martínez & Swain (1985) estudaram a composição em flavonóides das folhas de 152 espécies desta família, tendo verificado a predominância de C-glicosídeos de flavonas, em 78% das espécies, incluindo *C. erecta* e *C. Benghalensis*. Os mesmos autores identificaram ainda a presença de O-glicosídeos de flavonóis em 28% das espécies estudadas, sendo a quercetina a aglicona mais frequente (Martínez & Swain, 1985). Em particular, foi descrita a presença de C-glicosídeos e quercetina em *C. erecta*, compostos estes também identificados na *C. benghalensis* para além do canferol. Mais recentemente, Bezerra *et al.* (2019) estudaram diferentes extratos de caules de *C. erecta*, tendo identificado diferentes compostos na sua composição através da utilização de espectrometria de massa de ressonância magnética nuclear (RMN), nomeadamente luteolina, isoquercitrina, quercitrina, lactona do ácido sacarínico, três esteróides glicosilados e ácido xiquímico. Os resultados de RMN parecem ainda sugerir que este último composto apresenta teores elevados nesta espécie, similarmente ao descrito para a *C. benghalensis* (7.3%) (Bochkov *et al.*, 2012). No que respeita a espécie *C. benghalensis*, os estudos são mais escassos, tendo sido isolados o *n*-trioctanol, estigmasterol, *n*-octasonol e campesterol, e realizados estudos fitoquímicos qualitativos que sugerem a presença de flavonóides, em particular antocianinas, terpenóides, iridóides, dammareno, alcalóides, ácidos fenólicos, polióis, luteína e  $\beta$ -caroteno (Alaba & Chichioco-Hernandez, 2014; Fibrich & Lall, 2020; Tiwari *et al.*, 2013). Na **Tabela 1** estão apresentados os resultados do estudo fitoquímico realizado por Cuéllar Cuéllar & Okori (2010) em extratos frescos e secos de *C. benghalensis*, que sugerem a presença de metabolitos como alcalóides, triterpenos, agentes redutores, fenóis, taninos, quinonas, flavonoides e saponinas.

**Tabela 1.** Compostos presentes nos extratos de *Commelina benghalensis*.

Grupo químico	Extrato seco		Extrato fresco	
	Etanólico	Aquoso	Etanólico	Aquoso
Alcaloides	++	-	++	-
Triterpenos	+	-	++	-
Agentes redutores	++	++	+	++
Fenóis	+	++	++	++
Taninos	+	++	++	++
Quinonas	+++	-	++	-
Flavonoides	++	-	+	-
Saponinas	+	+++	++	+++

\*Resultado positivo, +; resultado muito positivo, ++; resultado extremamente positivo, +++; resultado negativo, -. Fonte: *Adaptado de* Cuéllar Cuéllar & Okori (2010)

Compostos como alcalóides, taninos, flavonóides totais e fenólicos totais também se mostraram presentes noutros trabalhos que incluíram o estudo fitoquímico de extratos de *C. benghalensis* (Mummed *et al.*, 2018). Na espécie *C. Communis*, também pertencente à família Commelinaceae, foi descrita a presença de antocianinas (Derrick *et al.*, 2017), as quais são responsáveis pela formação de coloração vermelha intensa, azul ou arroxeadada em flores (Soutinho, 2012), o que pode explicar o facto de esta planta ser historicamente relatada como um corante natural devido à presença de flores azuis, sendo que, as espécies *C. erecta* e *C. benghalensis* também possuem floração azul. Vários estudos têm demonstrado os efeitos biológicos associados às antocianinas, tais como efeitos neuroprotetores, atividade antioxidante, antimicrobiana e atividade anticancerígena (Bakowska-Barczak & Kolodziejczyk, 2011).



**Figura 5** - Estrutura básica ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos (A) e hidroxicinâmicos (B)  
(Fonte: Adaptado de Murkovic, 2015)

Para além de flavonóides, os ácidos fenólicos são outro grupo de metabolitos pertencente aos compostos fenólicos, caracterizados pela presença de um anel benzénico e um grupo ácido, podendo apresentar ainda um ou mais grupos hidroxilo e/ou metoxilo (Soutinho, 2012). Os ácidos fenólicos subdividem-se em dois grupos, ácidos hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos (Angelo & Jorge, 2006). Como exemplo de ácidos hidroxinâmicos, refira-se o ácido cafeico, que pode ser esterificado ao ácido quínico, obtendo-se ácidos clorogénicos, os quais estão descritos como sendo benéficos para a saúde humana (Garambone & Rosa, 2007). Análises cromatográficas de extratos aquosos e etanólicos de *C. erecta* denotaram a presença de ácido cafeico e rutina em folhas da planta (Otsuka *et al.*, 2020). Num outro estudo realizado por Misra *et al.* (2016) foi descrita a presença de ácido vanílico, ácido ferúlico, ácido protocatecuico, além de apigenina e canferol, nas concentrações 0,622%, 0,365%, 0,033%, 0,126% e 0,544%, respectivamente em amostras frescas de *C. benghalensis*.

### 1.3.2. Potencial bioativo

Compostos bioativos são definidos por consenso como sendo um conjunto de compostos essenciais ou não essenciais, gerados pela natureza capazes de proporcionar benefícios para a saúde (Biesalski *et al.*, 2009). As plantas medicinais conjecturam uma promissora fonte de compostos bioativos, os quais podem ser utilizadas para fins terapêuticos e alimentares (Ji *et al.*, 2020; Rajput & Kumar, 2020). Entre os compostos bioativos provenientes de plantas, evidenciam-se os compostos com propriedades antimicrobianas e antioxidantes.

Atualmente, o crescente desenvolvimeto de doenças infecciosas emergentes causadas por microrganismos resistentes a antibióticos tem gerado crescentes preocupações. Por isso, a necessidade de desenvolver novos antimicrobianos, destacando-se os trabalhos realizados com substâncias oriundas de plantas, devido ao seu baixo efeito colateral e potencial efeito terapêutico é de extrema importância (Gadisa *et al.*, 2019; Parekh & Chanda, 2007; Rajput & Kumar, 2020). Estudos realizados com extratos obtidos a partir de espécies de plantas do género *Commelina* sugerem que estes detém propriedades antimicrobianas. Paz *et al.* (1996) descreveram que os extratos de *C. erecta* têm efeitos antimicrobianos face a diferentes estirpes de microrganismos tais como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*, para as quais o extrato etanólico da flor obteve melhor eficiência quando comparado com o extrato aquoso da folha, como apresentado na **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Estudos sobre atividade antimicrobiana dos extratos etanólico da flor e aquoso da folha de *Commelina erecta*.

Extratos	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Etanólico Flor	+++	+	+++	+
Aquoso Folha	+++	0	0	+

\*Determinado segundo a metodologia de difusão em ágar. Diâmetro de inibição (dr) descrito como: 0; dr<0,5; +: dr 0,5-0,6; ++: dr 0,6-0,7; +++: dr>0,7. Fonte: Adaptado de Paz *et al.* (1996).

No entanto, os mesmos extratos não demonstraram atividade face a estirpes de *Micrococcus luteus*, *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*, tendo-se obtido diâmetros de inibição inferiores a 0,5 mm (Paz *et al.*, 1996). Em relação à espécie *C. Benghalensis*, resultados obtidos por Gothandam *et al.* (2010), denotam a eficácia do extrato metanólico de folhas frescas colhidas em Vellor, Índia, contra estirpes de

*Streptococcus lactis* e *Enterobacter aerogenes*. Porém, no mesmo estudo não foi observada eficiência inibitória para estirpes de *E. Coli*, o que não está de acordo com os resultados do trabalho realizado por Cuéllar Cuéllar & Okori (2010), no qual os extratos etanólicos de folhas frescas apresentaram inibição contra *E. Coli*, *S. aureus* e *C. albicans* (**Tabela 2**). Estes autores avaliaram ainda a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos obtidos de folhas secas, os quais apresentaram igualmente poder inibitório, similar ao descrito na **Tabela 2**. Contudo, extratos aquosos não denotaram eficácia quer para folhas secas ou frescas (Cuéllar Cuéllar & Okori, 2010). Ainda na presente planta referida, o estudo realizado por Mummmed *et al.* (2018) mostrou que extratos obtidos a partir das folhas com concentração média de 390 mg/mL apresentaram um diâmetro de inibição de 17 mm para *S. aureus* e 11 mm de inibição para *P. aeruginosa*, sendo ambas as bactérias usadas estirpes padrão obtidas no Ethiopia Public Health Institute.

**Tabela 3** - Atividade antimicrobiana dos extratos etanólico obtidos de folhas fresca e de folhas secas de *C. benghalensis* avaliada por ensaio de difusão em ágar (diâmetro da zona de inibição (mm)).

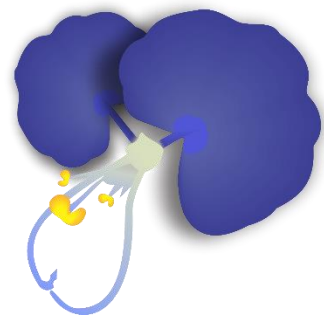
Microrganismo	Diluições do extrato							
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	álcool
<i>Extrato da folha fresca</i>								
<i>E. coli</i>	17	18	14	10	10	9	8	5
<i>S. aureus</i>	12	11	11	11	10	10	7	3
<i>C. albicans</i>	19	19	18	18	17	15	10	6
<i>Extrato da folha seca</i>								
<i>E. coli</i>	12	12	10	11	8	6	4	4
<i>S. aureus</i>	17	12	10	10	10	9	8	6
<i>C. albicans</i>	12	12	12	11	11	9	9	7

Fonte: Adaptado de (Cuéllar Cuéllar & Okori, 2010)).

Outro potencial biológico relevante que tem sido descrito para diversas plantas, diz respeito à sua capacidade antioxidante. Esta está associada a substâncias capazes de prevenir e retardar oxidações moleculares através das interações com os radicais livres, função essa conduzida por antioxidantes (Llacuna & Mach, 2012). Radicais livres, são moléculas de baixa estabilidade e alta reatividade formada através das reações oxidativas, as quais possuem capacidade de danificar as estruturas biológicas das células, causando alterações celulares e auxiliando no desenvolvimento de doenças como cancro, Alzheimer, Parkinson, diabetes, hipertensão, infertilidade, entre outras (Carocho & Ferreira, 2012). Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), quando associados

aos alimentos, os antioxidantes conferem a capacidade de preservar e retardar reações de deterioração oxidativa (Degáspari & Waszczyński, 2004). Os extratos de plantas e vegetais, de uma forma geral, são caracterizados por conterem agentes antioxidantes naturais tais como: vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis), carotenóides e/ou flavonóides (Rodrigues *et al.*, 2003). Estudos realizados por Bezerra *et al.* (2019) denotam baixa atividade antioxidante para amostras de *C. erecta*, enquanto que para amostras de *C. benghalensis* mostram que com uma baixa concentração de extratos obtidos foi capaz de atingir índices de IC<sub>50</sub> (Hasan *et al.*, 2009).

Outras propriedades biológicas importantes têm sido atribuídas a plantas ou aos seus extratos, muitas das quais relevantes no contexto atual, tal como a atividade anticancerígena fornecida por compostos bioativos. Deste modo o desenvolvimento e identificação de potenciais agentes anticancerígenos produzidos por plantas com capacidade de inibir ou reverter processos celulares e moleculares carcinogênicos é de grande importância (Batool *et al.*, 2020). Extratos de cloroformio da raiz de *C. benghalensis* denotaram um significativo efeito celular contra cancro de mama (linha celular MDA-MB-321), demonstrando assim um potencial efeito anticancerígeno proveniente da mesma (Batool *et al.*, 2020).



## **2. OBJETIVOS**

## 2.1. Objetivo geral

Como referido, as plantas representam uma fonte considerável de compostos naturais, sendo utilizadas desde a antiguidade devido às diferentes necessidades básicas alimentares e farmacológicas. Nos últimos anos tem aumentado o interesse pela identificação de compostos bioativos provenientes de fontes naturais. Este facto pode estar associado a uma maior atenção da indústria agroalimentar às exigências dos consumidores, os quais têm vindo a preferir a utilização de produtos naturais, percebidos como menos prejudiciais para a saúde, em detrimento de outros de origem sintética. Além disso, atualmente verifica-se o crescimento de tendências gastronómicas nas quais se utilizam insumos de plantas silvestres regionais. Deste modo, têm sido realizados diversos trabalhos com vista a um melhor conhecimento da composição química das plantas silvestres capazes de atender às exigências atuais. Entre estas, diferentes espécies de plantas pertencentes à família Commelinacea demonstraram já uma base científica que comprova as suas finalidades fitoterápicas e alimentares. No entanto, espécies como *C. erecta* e *C. benghalensis*, embora utilizadas quer como alimento, quer como fitoterápico em diferentes regiões do globo, são ainda pouco estudadas quanto à sua composição química e ao seu potencial biológico.

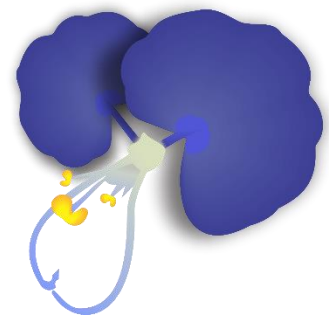
Para além de serem comumente usadas em diversas áreas, como forragem e suplementação proteica para ruminantes, as espécies *C. erecta* e *C. benghalensis* são citadas pelas suas finalidades fitoterápicas contra diversas enfermidades, bem como pela sua contribuição na alimentação humana. Deste modo o presente estudo tem como objetivo geral, avaliar o perfil nutricional, composição química e bioatividades das duas espécies de plantas silvestres cujos estudos são escassos, *C. erecta* e *C. benghalensis*.

## 2.2. Objetivos específicos

Para alcançar o objetivo geral do trabalho, foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Caracterização do valor nutricional (lípidos, proteínas, cinzas, hidratos de carbono e energia) e a composição química (açúcares livres, ácidos orgânicos, ácidos gordos, tocoferóis e compostos fenólicos) das espécies mencionadas;
- Determinar as bioatividades (antioxidante, citotoxicidade, anti-inflamatória e antimicrobiana) dos extratos aquosos e hidroetanólicos;

Assim, este trabalho pretende contribuir para a validação dos conhecimentos empíricos a nível fitoterápico e alimentar, referenciados por diferentes culturas sobre ambas as espécies, além de agregar novas possibilidades de uso dos compostos ativos destas espécies em produtos alimentares e/ou farmacológicos.



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### 3.1. Padrões e reagentes

#### 3.1.1. *Análise química e nutricional*

O acetonitrilo 99.9%, *n*-hexano 95% e acetato de etilo 99.8% de grau HPLC foram adquiridos na Lab-Scan (Lisboa, Portugal). O etanol 99.8%, metanol 99.9%, hexano, éter de petróleo, ácido sulfúrico e ácido clorídrico de grau analítico foram adquiridos na Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, EUA). O clorofórmio, 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dicloridrato (AAPH), ácido tricloroacético (TCA), tris e os padrões de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (trolox), açúcares (>98% pureza HPLC), ácidos orgânicos (≥99% pureza HPLC) e a mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME) (padrão 47885-U) foram adquiridos na Sigma-Aldrich Co (St. Louis, MO, EUA). Os padrões de tocoferóis (>98% pureza HPLC), tocol 50 mg/mL (98% pureza HPLC), foram adquiridos na Matreya (Pleasant Gap, PA, EUA), os padrões de compostos fenólicos foram adquiridos na Extrasynthèse (S.A., Genay, França).

O tratamento da água foi realizado usando um sistema de purificação de água Milli-Q (TGI Pure Water Systems, Greenville, SC, EUA).

#### 3.1.2. *Análise de propriedades bioactivas*

*Atividade antioxidante:* *Atividade antioxidante:* O tampão Tris-HCl, ácido ascórbico, FeSO<sub>4</sub>, ácido tricloroacético e ácido tiobarbitúrico foram obtidos na empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). O padrão trolox (ácido 6-hydroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico) e 2,2'-azobis(2-metilpropionamida) di-hidroclorido obtidos conforme referido secção anterior (*secção 3.2.1.*).

*Potencial citotóxico:* As linhas celulares tumorais humanas de adenocarcinoma intestinal (CaCo-2), adenocarcinoma mamário (MCF-7) e carcinoma pulmonar (NCI-H460) foram obtidas no Instituto Leibniz - DSMZ (*German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH*, Braunschweig, Alemanha). A linha celular tumoral humana de adenocarcinoma gástrico (AGS) e uma cultura celular não tumoral de rim de macaco (VERO-B4) foram obtidas da ECACC (Salisbury, UK). O soro fetal bovino (FBS) inativado termicamente, a L-glutamina, a solução salinam equilibrada de Hank, a tripsina-EDTA (ácido etilenediaminatetra-acético), a solução de penicilina/estreptomicina (100 U/mL e 100 mg/mL), o meio RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute) e o meio DMEM para células animais (Dulbecco Modified Eagle)

foram fornecidos pela empresa Hyclone (Logan, UT, USA). O ácido acético, ácido fórmico, elipticina, sulforrodamina B, azul de Tripiano e Tris foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). A água foi tratada como referido secção anterior (secção 3.2.1.).

*Atividades anti-inflamatória:* Os macrófagos RAW 264.7 de rato foram obtidos da ECACC (European Collection of Animal Cell Culture) (Salisbury, UK), o meio DMEM da Hyclone (Logan, Utah, USA), os lipopolissacarídeos bacterianos da empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) e o kit de reagentes Griess da empresa Promega (Madison, WI, USA).

*Atividades antibacteriana e antifúngica:* Ágar malte foi obtido do *Institute of Immunology and Virology*, Torlak (Belgrade, Serbia). O corante Cloreto de *p*-iodonitrotetrazólio foi adquirido da Panreac Applichem (Barcelona, Espanha).

### **3.2. Preparação das amostras e extratos**

No presente estudo foram selecionadas as partes aéreas constituintes de duas espécies, nomeadamente, *C. erecta*. e *C. benghalensis*. O material vegetal de cada espécie foi colhido na região Oeste do Paraná – Brasil, previamente limpo de restos de solo e separado, dando origem a diferentes lotes: caule na floração e pós a floração, folhas na floração e pós a floração e flores pertencentes a *C. erecta* e no tocante a *C. benghalensis* foram avaliadas as partes aéreas caule pós floração e folhas pós floração. O material vegetal foi liofilizado, reduzido a pó e conservado a -20 °C para posterior análise.

#### *3.2.1. Preparação dos extratos*

Para as decocções, 3 g de cada amostra foram extraídas com 100 mL de água desionizada (TGI Pure Water Systems, Greenville, SC. USA), em ebulição durante 5 min. De seguida a mistura foi filtrada com filtro de papel Whatman N° 4, congelada e liofilizada (FreeZone 4.5, Labconco, MO, EUA) para a obtenção dos extratos. Para os extratos hidroalcoólicos, 1g de cada amostra foi extraída com 30 mL de etanol/água (80:20, v/v) sob agitação magnética constante, à temperatura ambiente, durante uma hora. O preparado foi filtrado através de um filtro de papel Whatman N° 4 e o resíduo re-extraído pela repetição do procedimento. Posteriormente, o etanol foi evaporado a 40 °C (Buchi R-2010), e procedeu-se à congelação e liofilização da solução aquosa para a obtenção dos extratos.

### 3.3. Caracterização nutricional e química

#### 3.3.1. Composição aproximada

Foi avaliada a composição em macronutrientes (hidratos de carbono, cinzas, proteínas e lípidos) e o valor energético conforme os métodos oficiais da AOAC (2016). O teor de proteínas totais foi estimado pelo método macro-Kjeldahl, por conversão do azoto total utilizando o fator de correção ( $N \times 6,25$ ). A gordura total foi determinada após extração de uma massa conhecida da amostra com éter de petróleo, utilizando o aparelho de Soxhlet. As cinzas foram determinadas por incineração numa mufla a  $600 \pm 15$  °C e os resultados foram expressos em g/100g de massa fresca (mf). Os hidratos de carbono foram calculados por diferença, segundo equação (1). A energia foi calculada com base no sistema de Atwater de acordo com a equação (2).

$$100 - (\text{humidade} + \text{cinzas} + \text{proteínas} + \text{lípidos})$$

**Equação 1** - Hidratos de carbono em g/ 100 g mf.

$$4 \times (\text{g proteínas} + \text{g glúcidos}) + 9 \times (\text{g lípidos})$$

**Equação 2** - Energia total em quilocaloria (kcal).

#### 3.3.2. Açúcares livres

A determinação dos açúcares livres foi realizada com base na metodologia descrita por Obodai *et al.* (2017), utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com detetor de índice de refração (HPLC-RI). Às amostras liofilizadas (1,5 g), foi adicionado 1 mL de padrão interno (PI melezitose 25 mg/mL) e posteriormente procedeu-se à extração com 40 mL de etanol 80% a 80 °C durante 1 h 30 min. Em seguida, procedeu-se à filtração e evaporação do etanol e o sobrenadante obtido foi lavado três vezes sucessivas com 10 mL de éter etílico (deslipidificação da fase aquosa). Após evaporação a 40 °C, o resíduo sólido foi redissolvido em água destilada para um volume final de 5 mL. Após filtração em filtros de *nylon* de 0,2 µm para vials, procedeu-se à análise por HPLC-RI a 35 °C utilizando um sistema de HPLC (Knauer, sistema Smartline) equipado com um detetor de RI (Knauer Smartline 2300) e com uma coluna 100-5 NH2 Eurospher ( $4,6 \times 250$  mm, 5 mm, Knauer). A fase móvel utilizada foi acetonitrilo/água desionizada, 70:30 (v/v) com um caudal de 1 mL/min. A identificação e quantificação dos açúcares foi realizada por comparação cromatográfica com padrões comerciais e usando o método do PI. Os resultados foram expressos em g por 100 g de mf.

### 3.3.3. Ácidos Orgânicos

Os ácidos orgânicos foram determinados por cromatografia líquida ultra rápida com detector de díodos (UPLC-DAD), conforme a metodologia descrita e otimizada por Barros et al. (2013). Procedeu-se à extração de 1,5 g das amostras liofilizadas com 25 mL de ácido metafosfórico (25 °C a 150 rpm) em agitação durante 25 min. As soluções obtidas foram filtradas através de papel Whatman N° 4 e seguidamente através de filtros de *nylon* de 0,2 µm (Millipore) para *vials*. Os ácidos orgânicos foram analisados utilizando um sistema Shimadzu 20A series UFLC (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) equipado com uma coluna de fase reversa C18 SphereClone (Phenomenex, 5 µm, 250 × 4,6 mm), termostaticada a 35 °C. A eluição foi realizada com ácido sulfúrico 3.6 mM usando um caudal de 0,8 mL/min. A deteção foi efetuada num detector DAD, utilizando 215 nm e 245 nm (para o ácido ascórbico) como comprimentos de onda. Os ácidos orgânicos identificados foram quantificados por comparação da área dos picos com as curvas de calibração obtidas a partir de padrões comerciais de cada composto. Os resultados foram expressos em g por 100 g de ms.

### 3.3.4. Ácidos Gordos

A partir da fração lipídica obtida anteriormente pela extração de Soxhlet, procedeu-se à derivatização dos ácidos gordos através de um processo de transesterificação previamente descrito por Obodai *et al.* (2017), no qual 5 mL de metanol:ácido sulfúrico:tolueno (2:1:1, v/v/v) foram adicionados à fração lipídica e incubados por 12 h a 50 °C e 160 rpm. Após a incubação, foram adicionados 3 mL de água destilada e 3 mL de éter dietílico, agitou-se vigorosamente com a ajuda de um vórtex. A fase orgânica contendo os FAME foi removida, desidratada com sulfato de sódio anidro e filtrada com filtros de *nylon* de 0,2 µm (Millipore) para análise posterior.

O perfil de ácidos gordos foi determinado por cromatografia gasosa (GC 1000, DANI, Milão, Itália) equipado com um injetor *split/splitless* a 250 °C, detector de ionização de chama (FID) a 250 °C e uma coluna Macherey-Nagel (30 m × 0,32 mm ID × 0,25 µm, *df*, Phenomenex, Lisboa). O programa de temperatura do forno utilizado foi o seguinte: temperatura inicial da coluna foi de 80 °C, durante 1,5 min., em seguida aumentou-se a temperatura 40 °C/min até os 160 °C, 5 °C/min até os 185 °C, 30 °C/min até os 260 °C durante 4 min. O caudal do gás de arraste (hidrogénio) foi de 0,6 mL/min. medido a 100 °C. A injeção *split* foi de 1:80.

A identificação de ácidos gordos foi feita com base nos tempos de retenção relativos dos picos da mistura padrão dos 37 FAMES e das amostras. Os resultados foram processados usando o software Clarity 4.0.1.7 (DataApex, Podohradská, República Checa) e expressos em percentagem relativa de cada ácido gordo.

### 3.3.5. Tocoferóis

Os tocoferóis foram determinados de acordo com o procedimento descrito por Martins *et al.* (2016). Antes de se proceder à extração, adicionou-se às amostras liofilizadas (~500 mg) uma solução de BHT em hexano (10 mg/mL, 100 µL) e o padrão interno (PI) (tocol em hexano 50 µg/mL; 400 µL). Adicionaram-se 4 mL de metanol e posterior homogeneização no *vortex* durante 1 min. De seguida, adicionaram-se 4 mL de hexano procedendo-se, posteriormente, a nova homogeneização no *vortex* (1 min). De seguida, adicionou-se ainda 2 mL de uma solução aquosa saturada de NaCl e subsequente homogeneização no *vortex* (1 min), centrifugou-se (centrifuga refrigerada Multifuge X1R, Thermo Fisher Scientific, 5 min, 4000 g) e transferiu-se, cuidadosamente, o sobrenadante para um frasco âmbar. A amostra foi re-extraída mais duas vezes com hexano e desidratada com sulfato de sódio anidro. O extrato foi levado à secura recorrendo a uma corrente de azoto. De seguida foi re-dissolvido em 2 mL de hexano, filtrado (filtros de 0,22 µm) para *vials* âmbar e analisados por HPLC-FL.

Utilizou-se um sistema integrado de bomba quaternária (Knauer, sistema Smatline 1000), um desgaseificador (Smartline 5000), um amostrador automático (AS-2057 2500) e um detetor de fluorescência (FL, Jasco) programado para excitação a 290 nm e emissão a 330 nm. Os dados foram analisados usando o software Clarity 2.4 (DataApex, Praga, República Checa). A separação cromatográfica foi conseguida com uma coluna em fase normal Poliamida II (5 µm, 250 × 4,6 mm, WMC Waters, Japão), operando a 30 °C (forno 7971 R Grace). A fase móvel utilizada foi uma mistura de hexano/acetato de etilo (70:30, v/v) com um caudal de 1 mL/min.

A quantificação foi baseada na resposta do sinal de fluorescência, usando o método do PI e por comparação cromatográfica com padrões. Os resultados foram expressos em mg por 100 g de mf.

### 3.3.6. Análise de compostos fenólicos não antociânicos e antociânicos

Os extratos foram submetidos a análise cromatográfica de acordo com o procedimento descrito pelos autores Bessada *et al.* (2016), em LC-DAD-ESI/Msn (Dionex Ultimate 3000 UPLC, Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) utilizando um sistema composto por bomba quaternária e dupla detecção *on-line*: detector de díodos DAD (280, 330 e 370 nm como comprimentos de onda preferidos) e um espectrômetro de massa (MS). A detecção do MS foi realizada em modo negativo, utilizando-se um espectrômetro de massa Linear Ion Trap LTQ XL (Thermo Finnigan, San Jose, CA, EUA) equipado com fonte ESI. A quantificação dos compostos foi realizada utilizando-se curvas de calibração de 7 níveis de apigenina-6-C-glucosida ( $y = 197337x + 30036$ ,  $R^2 = 0,9997$ , LOD = 0,19 µg/mL; LOQ = 0,63 µg/mL), daidzina ( $y = 27652x + 29187$ ,  $R^2 = 0,9996$ , LOD = 20,58 µg/mL; LOQ = 62,35 µg/mL), e luteolina-6-C-glucosida ( $y = 4087,1x + 72589$ ,  $R^2 = 0,999$ , LOD=0,86 µg/mL; LOQ=1,67 µg/mL).

A aquisição dos dados foi realizada com o sistema de dados Xcalibur® (Thermo Finnigan, San Jose, CA, EUA). Para análise quantitativa, foi construída uma curva de calibração para cada padrão fenólico disponível com base no sinal UV-vis. Para os compostos fenólicos identificados para os quais não estava disponível um padrão comercial, a quantificação foi realizada através da curva de calibração do padrão mais semelhante disponível. Os resultados foram expressos em mg/g de extrato.

## 3.4. Propriedades bioativas

### 3.4.1. Atividade antioxidante

A avaliação do potencial antioxidante foi determinada *in vitro* nos extratos anteriormente preparados e liofilizados, através de 2 ensaios: inibição da peroxidação lipídica por espécies reativas de oxigênio, TBARS (*Thiobarbituric acid reactive species*) e o ensaio da inibição da hemólise oxidativa (OxHLIA).

#### 3.4.1.1. Inibição da peroxidação lipídica através de produtos reativos do ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Neste ensaio, os TBARS foram obtidos a partir de tecidos cerebrais de porco (*Sus scrofa*) homogeneizados em solução tampão Tris-HCl (20 mM e pH 7.4) para se obter uma porção de 1:2 (*m/v*) de homogeneizado cerebral após a centrifugação a 5000 rpm

durante 10 min. Recolheu-se o sobrenadante, o qual foi adicionando (100 µL) às soluções das amostras (200 µL) e a 100 µL de FeSO<sub>4</sub> (10 mmol/L) e 100 µL de ácido ascórbico (0.1 mmol/L). Após incubação a 37 °C durante 1 hora, parou-se a reação através da adição de 500 µL de ácido tricloroacético (28%, *m/v*), seguido do ácido tiobarbitúrico (TBA 2%, *m/v* 380 µL). Seguidamente a mistura foi aquecida a 80 °C durante 20 min e centrifugada a 3000 rpm durante 10 min para remover o precipitado proteico. A intensidade da cor do complexo malondialdeído (MDA) – TBA no sobrenadante foi medida a 532 nm e a inibição da peroxidação lipídica (%) foi calculada segundo a equação (3):

$$\% = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

**Equação 3** - Taxa de inibição em ensaio TBARS.

Onde A corresponde à absorvância do controlo e B à absorvância da amostra (Sarmiento *et al.*, 2014).

#### 3.4.1.2. OxHLIA – ensaio da inibição da hemólise oxidativa

Para a realização deste ensaio, foi efetuada uma colheita de sangue de ovelha do qual foram obtidos apenas os eritrócitos por centrifugação (Multifuge X1R. Thermo Fisher Scientific) a 2900 rpm, durante 5 min a 10 °C. Após eliminação do sobrenadante, a amostra centrifugada foi submetida a uma lavagem com NaCl (150 mM) seguida de três lavagens com tampão fosfato-salino (PBS; pH 7.4), procedendo-se a centrifugação e remoção do sobrenadante a cada lavagem. Em seguida preparou-se uma solução de eritrócitos a 2,8% (*v/v*) tendo como diluente o PBS. Posteriormente, 200 µL da solução de eritrócitos foram adicionados a 400 µL de PBS, (servindo esta solução de controlo), bem como às diferentes concentrações de extrato dissolvidas em PBS (20 a 0,625 mg/mL). Realizou-se ainda a adição da solução de eritrócitos à água (para promover a hemólise completa), funcionando como um controlo negativo. Os ensaios foram realizados em microplacas de 48 poços, as quais foram incubadas a 37 °C durante 10 min com agitação. Após o período de incubação, foram adicionados 200 µL de dicloridrato de 2.2'-azobis (2-amidinopropano) (AAPH; 160 mM) e a densidade ótica foi medida a 690 nm. As microplacas foram depois incubadas nas mesmas condições até hemólise completa, com medições a cada 10 min (Lockowandt *et al.*, 2019).

A percentagem da população de eritrócitos (PE) que permanece intacta foi calculada conforme a equação (4):

$$PE (\%) = \left( \frac{St - CH0}{S0 - CH0} \right) \times 100$$

**Equação 4** - Percentagem de eritrócitos (PE) no ensaio OxHLIA

Onde St e S0 correspondem à densidade ótica da amostra num instante de tempo t e 0 min, respetivamente e CH0 é a densidade ótica correspondente à hemólise completa aos 0 min. Os resultados foram expressos como tempo de atraso da hemólise ( $\Delta t$ ), calculado da seguinte equação (5):

$$\Delta t (\text{min}) = Ht_{50} (\text{amostra}) - Ht_{50} (\text{controlo})$$

**Equação 5** - Tempo de atraso da hemólise

De modo que  $Ht_{50}$  é o tempo correspondente a 50% de hemólise (min.), obtido graficamente a partir da curva de hemólise para cada concentração de amostra antioxidante. O trolox (7,81–250  $\mu\text{g/mL}$ ) foi utilizado como controlo positivo. Foram estabelecidas correlações entre os valores de  $\Delta t$  e as diferentes concentrações de amostra, de forma a calcular a concentração capaz de retardar a hemólise em 60 min ( $IC_{50}$  (60 min), mg/mL) e em 120 min ( $IC_{50}$  (120 min), mg/mL).

#### 3.4.2. Citotoxicidade

O efeito dos extratos no crescimento de linhas celulares tumorais humanas foi avaliado através do ensaio da Sulfarrodamina B (SRB) como descrito pelos autores Abel & Baird (2018), com o intuito de determinar a inibição do crescimento celular. Para tal, foram utilizadas quatro linhas celulares tumorais humanas, nomeadamente AGS (adenocarcinoma gástrico), CaCo (adenocarcinoma colorretal), NCI-H460 (carcinoma do pulmão) e MCF-7 (carcinoma de mama). Foi também utilizada uma linha não tumoral de células de rim de macaco verde africano (Vero).

Pesaram-se 8 mg de cada extrato e redissolveu-se em água obtendo a concentração de 8 mg/mL e por conseguinte fizeram-se diluições sucessivas compreendidas entre a gama de 400 a 6,25  $\mu\text{g/mL}$ . As células foram cultivadas numa incubadora de ar humidificado com 5% de  $\text{CO}_2$ , em frascos de cultura de tecidos de 25  $\text{cm}^2$  e suplementadas com RPMI 1640 com 10% de soro fetal bovino, 2 mM de aminoácidos não essenciais e glutamina, 100 U/mL de penicilina e 100 mg/mL de estreptomicina. Foi

efetuada uma monitorização contínua das células num microscópio de contraste de fase (Icon Eclipse Ts 100).

Para preparar o ensaio, começou-se por retirar o meio de cultura do frasco de cultura com as células e lavou-se com solução salina (HBSS, 2 mL). Descartou-se o meio de lavagem e adicionou-se tripsina (2,5 mL) para desagregar as células da caixa de cultura, levando-se a incubar durante três min. Em seguida, adicionou-se meio de cultura (5 mL) de modo a neutralizar a ação da tripsina, e colocou-se a suspensão da linha celular em tubos de Falcon estéreis para centrifugar (5 min). Descartou-se o meio de cultura com tripsina e retirou-se a suspensão celular (75  $\mu$ L) para um *eppendorf* à qual se juntou a mesma quantidade (75  $\mu$ L) de azul tripano para se proceder à contagem de células numa câmara de *Neubauer*. Posteriormente, colocaram-se os extratos (10  $\mu$ L) em microplacas de 96 poços juntamente com o volume de suspensão celular calculado para a densidade estabelecida e perfez-se o volume do poço com meio de cultura. Após isto, as microplacas armazenaram-se devidamente seladas durante 72 horas a 37 °C com humidade e 5% de CO<sub>2</sub>. Já com as células devidamente aderidas, desprezou-se o conteúdo da microplaca e deu-se início ao teste da SRB pela adição de ácido tricloroacético frio (10%, 100  $\mu$ L) a cada um dos poços e pela incubação a 4 °C por 60 min. Após isto, lavaram-se devidamente com água destilada e as microplacas foram colocadas a secar. Adicionou-se então a SRB (0,1 em 1% ácido acético; 100  $\mu$ L) incubando de seguida durante 30 min à temperatura ambiente. A placa foi novamente lavada, desta vez com ácido acético (1%) de modo a retirar cuidadosamente o excesso de SRB e deixou-se secar. Solubilizou-se a SRB com Tris (200  $\mu$ L, pH 7,4) com auxílio de um agitador de microplacas (Stat Fax-2100) e procedeu-se à leitura da absorvância no leitor de microplacas referido previamente. Os resultados foram expressos pelo fator de diluição que inibiu 50% do crescimento celular (GI<sub>50</sub>  $\mu$ g/mL). Todos estes processos e operações foram efetuados em ambiente assético numa câmara de fluxo laminar vertical (TLStar, AV-30/70).

### 3.4.3. Atividade anti-inflamatória

A avaliação da atividade anti-inflamatória foi determinada de acordo com o procedimento descrito por Villavicencio *et al.* (2018). Foi utilizada uma linha celular de macrófagos de rato RAW 264.7 cultivada em DMEM/HIGH glucose e mantida a 37 °C sob atmosfera húmida com 5 % de CO<sub>2</sub>. Em microplacas de 96 poços foi adicionado o meio de forma a ter em cada poço cerca de  $15 \times 10^4$  macrófagos e incubaram-se durante 18-24 h para aderirem à placa. No fim do período de incubação, o meio consumido é

removido para deixar as células fixadas nos poços, com a adição de 150  $\mu\text{L}$  de meio DMEM/HIGH glucose e 15  $\mu\text{L}$  das diluições descritas anteriormente na secção 3.4.2. e incubando novamente durante 60 min. Seguidamente, as células foram estimuladas com solução de lipopolissacárido (LPS) na concentração de 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (30  $\mu\text{L}$ ) e os poços foram completados com meio até obtenção de um total de 300  $\mu\text{L}$ , procedendo-se seguidamente a incubação durante 24 horas. Como controlo utilizaram-se soluções com o LPS e soluções sem os extratos, de forma a avaliar a produção de óxido nítrico respetivamente 0% e 100%. O LPS utilizado é um produto obtido a partir da bactéria *E. coli* e a sua preparação também é realizada com o meio DMEM/HIGH glucose.

Após o período de incubação, o sobrenadante da cultura celular (100  $\mu\text{L}$ ) é transferido para outra microplaca e adicionado o reagente Griess que contém uma mistura de sulfanilamida e soluções NED (cloreto de hidrocloreto etilenodiamina N-(1-naftil)), as placas foram mantidas em repouso por 5 min a temperatura ambiente e protegidas da luz. O óxido nítrico foi determinado através da medição da absorvância a 515 nm utilizando o leitor de microplacas descrito anteriormente e por comparação com a curva de calibração padrão. Os resultados foram calculados a partir da equação da reta obtida do gráfico que relaciona a concentração de óxido nítrico e a absorvância. Os resultados foram calculados a partir da equação da reta obtida do gráfico que relaciona a concentração de óxido nítrico e a absorvância, sendo o resultado expresso em  $\text{EC}_{50}$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

#### 3.4.4. Atividade antimicrobiana

Os microrganismos utilizados para avaliação da atividade antimicrobiana foram adquiridos em conjunto com o Laboratório de Micologia do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto de Investigação Biológica “Siniša Stanković” da Universidade de Belgrado na Sérvia.

##### 3.4.4.1. Atividade antibacteriana

Para avaliação da atividade antibacteriana seguiu os procedimentos proposto por Soković et al. (2010). Foram avaliadas três bactérias Gram-positivas, sendo elas, *Staphylococcus aureus* (ATCC 11632), *Bacillus cereus* (isolado clínico) e *Listeria monocytogenes* (NCTC 7973), além de três bactérias Gram-negativas, tais como

*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) e *Enterobacter cloacae* (ATCC 35030).

As culturas bacterianas foram ajustadas, através de espectrofotômetro a 625 nm, com solução salina estéril, até uma concentração aproximada de  $1,0 \times 10^8$  UFC/mL. Previamente, os inóculos foram cultivados em meio sólido para verificar a sua validade e a ausência de contaminação. De seguida, as diferentes diluições do extrato hidroetanólico foram pipetadas para os poços de uma microplaca e adicionados 100  $\mu$ L de caldo tríptico de soja (TSB) e 10  $\mu$ L de inóculo. A microplaca foi incubada a 37 °C durante 24 horas. Após o período de incubação, adicionou-se a cada poço 40  $\mu$ L de corante cloreto de p-iodonitrotetrazólio (INT; 0,2 mg/mL) e incubou-se novamente a 37 °C durante 30 min. As menores concentrações que produziram uma inibição significativa do crescimento bacteriano (em torno de 50%) em comparação ao controlo positivo, ou seja, as CMIs, foram determinadas por um ensaio colorimétrico de viabilidade microbiana baseado na alteração da cor amarela para rosa.

As CMBs foram determinadas por subcultura em série, adicionando 10  $\mu$ L de cada poço, que não apresentou mudança de coloração, à 100  $\mu$ L de TSB, seguido de incubação a 37 °C por 24 horas. A menor concentração sem crescimento visível foi considerada como a CMB. Os aditivos conservantes de alimentos sulfito de sódio (E221) e metabissulfito de potássio (E224) foram utilizados como controlos positivos. Os resultados de CMI e CMB foram expressos em mg por mL.

#### 3.4.4.2. Atividade antifúngica

Para avaliação da atividade antifúngica ocorreu conforme procedimento previamente proposto por Soković & Van Griensven (2006). A avaliação dos extratos deu-se frente a inibição de seis fungos *Aspergillus fumigatus* (isolado clínico), *Aspergillus niger* (ATCC 6275), *Aspergillus ochraceus* (ATCC 12066), *Penicillium funiculosum* (ATCC 36839), *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium* (isolado alimentar) e *Trichoderma viride* (IAM 5061).

Os fungos foram mantidos em ágar malte (MA), armazenados a 4 °C e subcultivados uma vez por mês. Os esporos fúngicos foram lavados da superfície do ágar com solução salina estéril (0,85%) suplementado com Tween 80 (0,1% v/v). A suspensão de esporos foi ajustada com uma solução salina estéril para uma concentração de,

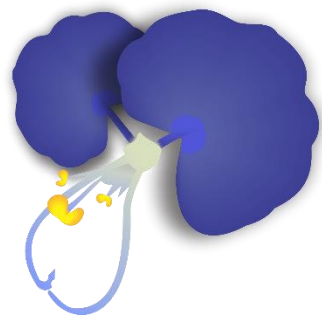
aproximadamente,  $1,0 \times 10^5$  UFC/mL, e inoculadas em MA a fim de verificar a sua validade e a ausência de contaminação.

A CMI foi determinada adicionando o extrato hidroetanólico aos poços com caldo extrato de malte e inóculo fúngico, seguido de incubação a 28 °C durante 72 horas. As concentrações mais baixas, sem crescimento visível (usando um microscópio binocular), foram definidas como CMI.

As concentrações mínimas fungicidas (CMFs) foram determinadas por subcultura em série de 2 µL de cada poço, que não apresentou crescimento, em microplaca contendo 100 µL de caldo extrato de malte por poço, seguido de incubação a 28 °C durante 72 horas. A menor concentração sem crescimento visível foi definida como CMF, indicando 99,5% de morte do inóculo original. O controle positivo foi avaliado de modo análogo a secção anterior (*secção 3.4.4.1.*) Os resultados de CMI e CMF foram expressos em mg por mL.

### **3.5. Análise estatística**

Todos os ensaios foram realizados em triplicado ( $n=3$ ) e os valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão (DP). Os testes estatísticos foram realizados com o nível de significância de 5%, utilizando o software estatístico SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Versão 23.0; IBM Corp., Armonk, NY, EUA). As diferenças entre as amostras foram avaliadas pela análise unidirecional de variância (ANOVA) e as médias comparadas de acordo com o teste Tukey's HSD ( $p=0.05$ ).



#### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### 4.1. Composição nutricional e química

Os resultados obtidos relativamente à composição nutricional de ambas as espécies estão apresentados na **Tabela 4**. Refira-se que não foi possível avaliar a flor devido à baixa quantidade de amostra disponível face à necessária para levar a cabo todas as determinações da composição proximal. No caso da espécie *C. erecta* verificou-se um teor de humidade inferior para as amostras pós-floração, correspondendo a uma variação crescente na concentração de macronutrientes relacionado com o período de colheita. Tal foi particularmente notório no caso dos lípidos que apresentaram um acréscimo de 14× e 23× para folha e caule, respetivamente. No contexto geral verificou-se alguma variação de valores para cada parâmetro avaliado, com a existência de diferenças estatísticas significativas entre as amostras. Em particular, para o mesmo período de colheita (pós-floração) as amostras de *C. benghalensis* quando comparadas com *C. erecta* apresentaram maior teor de compostos inorgânicos (cinzas), de proteína e de glúcidos, e menor teor de humidade e lípidos. Em estudos anteriores realizados para a folha seca de *C. benghalensis*, Vishwakarma & Dubey (2011) obtiveram um valor de 8,05 g/100 g de proteína e 43,09 g/100 g de carboidratos em massa seca da folha, valores estes inferiores aos determinados no presente estudo quando convertidos em extrato seco (13,9 g/100 g e 94,14 g/100 g de proteína e carboidratos, respetivamente) relativos à parte edível referida. Esta diferença pode ser justificada devido ao período de colheita bem como a diferentes condições edafoclimáticas.

**Tabela 4** - Composição proximal, humidade e valor energético de partes aéreas de *C. erecta* e *C. benghalensis* (média ± DP, n=9).

	Humidade (g/ 100 g mf)	Lípidos (g/100 g mf)	Proteína (g/100 g mf)	Cinza (g/100 g mf)	Glúcidos (g/100 g mf)	Energia (kcal/100 g mf)
<i>C. erecta</i>						
Caule na floração	94±6 <sup>a</sup>	0,08±0,01 <sup>f</sup>	0,53±0,03 <sup>f</sup>	0,73±0,01 <sup>f</sup>	4,55±0,01 <sup>e</sup>	21,09±0,03 <sup>e</sup>
Caule pós floração	90,7±9 <sup>b</sup>	1,86±0,06 <sup>b</sup>	0,97±0,01 <sup>e</sup>	1,02±0,02 <sup>d</sup>	5,5±0,3 <sup>d</sup>	42,6±0,7 <sup>d</sup>
Folha na floração	94±6 <sup>a</sup>	0,14±0,01 <sup>e</sup>	1,64±0,07 <sup>d</sup>	0,92±0,02 <sup>e</sup>	3,50±0,07 <sup>f</sup>	21,82±0,04 <sup>f</sup>
Folha pós floração	89±11 <sup>c</sup>	2,03±0,04 <sup>a</sup>	1,99±0,05 <sup>b</sup>	1,39±0,02 <sup>c</sup>	5,9±0,9 <sup>c</sup>	50±3 <sup>c</sup>
<i>C. benghalensis</i>						
Caule pós floração	86±15 <sup>e</sup>	0,23±0,03 <sup>d</sup>	1,74±0,05 <sup>c</sup>	2,93±0,05 <sup>a</sup>	9,60±0,02 <sup>a</sup>	47,5±0,2 <sup>a</sup>
Folha pós floração	86±14 <sup>d</sup>	0,38±0,06 <sup>c</sup>	3,15±0,08 <sup>a</sup>	2,34±0,04 <sup>b</sup>	8,04±0,01 <sup>b</sup>	48,14±0,09 <sup>b</sup>

mf - massa fresca. Letras diferentes na mesma coluna mostram diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste HSD de Tukey ( $p < 0.05$ ).

No contexto histórico pode-se evidenciar diferentes plantas antes consideradas silvestres as quais atualmente estão inseridas na alimentação humana. A título de exemplo

refira-se a rúcula (*Eruca vesicaria* ssp.), planta previamente intitulada como PANC e que atualmente apresenta aspetos de uso convencional na alimentação. Outros exemplos de plantas antes designadas como PANCs e que hoje denotam um uso convencional na alimentação são as espécies *Pereskia aculeata* (Ora-pro-nóbis), *Portulaca oleracea* (Beldroega) e *Spilanthus oleracea* L. (Jambu), sendo esta última amplamente utilizada na preparação de pratos típicos amazônicos. Devido ao presente trabalho ser o primeiro a caracterizar a composição nutricional das duas espécies de trapoerabas, *C. erecta* e *C. benghalensis*, tendo em vista o período de colheita, a **Tabela 5** apresenta a composição nutricional de PANCs popularmente conhecidas por forma a poder-se efetuar uma comparação de valores. Quando comparados os resultados de PANCs popularmente conhecidas com os da *C. erecta* e *C. benghalensis* percebe-se que os valores em macronutrientes das trapoerabas são de uma forma geral idênticos ou superiores às demais PANCs apresentadas na **Tabela 5**, com exceção da proteína de *C. erecta* que apresentou valores ligeiramente inferiores. Assim verifica-se o interesse da inserção destas espécies de trapoerabas no uso alimentar diário dado a semelhança com outras PANCs mais consumidas.

**Tabela 5** - Composição proximal, humidade e valor energético de PANCs frequentemente consumidas.

	Humidade (g/ 100 g mf)	Lípidos (g/ 100 g mf)	Proteína (g/ 100 g mf)	Glúcídios (g/ 100 g mf)	Energia (kcal/100g mf)	Referência
<i>Eruca vesicaria</i> ssp (Rúcula)	91,71	0,66	2,58	3,65	25,00	(Duarte & Areco, 2014)
<i>Pereskia aculeata</i> (Ora-pro-nóbis)	88,09	0,30	3,10	5,01	35,14	(Stefanelli & Souza, 2016)
<i>Portulaca oleracea</i> (Beldroega)	92,86	2,03	3,39	0,36	20,00	(Duarte & Areco, 2014)
<i>Spilanthus oleracea</i> L. (Jambu)	88,60	0,25	3,08	5,30	35,86	(Aguiar et al., 2014)

mf – massa fresca.

Pelo apresentado, pode-se constatar que os glúcídios foram o macronutriente de maior abundância nos vegetais analisados, especialmente no caule de *C. benghalensis* que apresentaram resultados relativamente altos ( $9,60 \pm 0,02$ ) frente às demais amostras de partes aéreas das espécies estudadas (**Tabela 4**). Glúcídios são substâncias que usualmente apresentam a fórmula molecular  $C_n(H_2O)_n$  sendo incluídos neste grupo os açúcares

resultantes do processo de fotossíntese (Shah et al., 2019), os quais são responsáveis por diversos processos metabólicos dos vegetais tais como armazenamento de energia e o provisionamento de estruturas necessárias para síntese de outros compostos orgânicos. Dado o interesse destes compostos, adicionalmente procedeu-se à avaliação de açúcares livres. Conforme denotado na **Tabela 6** foram identificados um dissacarídeo e dois monossacarídeos, sendo eles a sacarose, glucose e frutose, respetivamente. Destes, a frutose mostrou-se presente em todas as partes edíveis avaliadas, divergindo da sacarose que apenas foi detetada na folha pós-floração de *C. erecta* em concentrações residuais e da glucose que foi identificada apenas na folha pós-floração de *C. benghalensis*. Pode-se ainda observar um aumento na concentração de açúcares livres totais no período pós-floração nas partes aéreas de *C. erecta*, o que poderá estar relacionado com a diminuição da necessidade de energia usada para a formação da flor por parte do vegetal (Moreira et al., 2014). Por fim, a parte aérea com maior concentração em açúcares totais se deu pelo caule pós-floração pertencente a *C. benghalensis*, de modo que a concentração em açúcares livres da *C. benghalensis* se mostrou evidentemente superior a *C. erecta*.

**Tabela 6** - Composição de açúcares livres de partes aéreas de *C. erecta* e *C. benghalensis* (média  $\pm$  DP, n=9).

	Frutose (g/ 100 g mf)	Glucose (g/ 100 g mf)	Sacarose (g/ 100 g mf)	Açúcares totais (g/ 100 g mf)
<i>C. erecta</i>				
Caule na floração	0,079 $\pm$ 0,001 <sup>f</sup>	nd	nd	0,079 $\pm$ 0,001 <sup>e</sup>
Caule pós floração	0,540 $\pm$ 0,002 <sup>b</sup>	nd	nd	0,540 $\pm$ 0,002 <sup>c</sup>
Folha na floração	0,212 $\pm$ 0,003 <sup>e</sup>	nd	0,014 $\pm$ 0,002	0,230 $\pm$ 0,004 <sup>f</sup>
Folha pós floração	0,311 $\pm$ 0,004 <sup>d</sup>	nd	nd	0,311 $\pm$ 0,004 <sup>d</sup>
<i>C. benghalensis</i>				
Caule pós floração	1,226 $\pm$ 0,045 <sup>a</sup>	nd	nd	1,230 $\pm$ 0,045 <sup>a</sup>
Folha pós floração	0,35 $\pm$ 0,007 <sup>c</sup>	0,344 $\pm$ 0,007	nd	0,700 $\pm$ 0,014 <sup>b</sup>

mf – massa fresca; nd – não detetado. Os resultados estão expressos em média $\pm$ desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna mostram diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste HSD de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Os ácidos orgânicos são compostos solúveis em água e que apresentam um ou mais grupos carboxílicos, podendo conter ainda outros grupos como cetona e hidroxilo (Qiu et al., 2021). Para além de desempenharem papéis importantes no metabolismo das plantas como produção de energia, armazenamento de carbono e interações microbianas, também são responsáveis pela acidificação do vegetal de modo a contribuir com características sensoriais. Relativamente às espécies avaliadas foram encontrados 4 tipos de ácidos orgânicos sendo eles o oxálico, málico, shiquímico e ascórbico, conforme se

apresenta na **Tabela 7**. A parte aérea com maior concentração de ácidos orgânicos foi o caule pós-floração da espécie *C. erecta*, enfatizando-se o teor considerável de ácido shiquímico. Este composto é um importante intermediário na biossíntese de lignina, aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) e da maioria dos alcaloides provenientes de plantas (Singh et al., 2019). Estudos recentes realizados por Bezerra et al. (2019) e Bochkov et al. (2012) confirmam a presença de ácido shiquímico em extratos de *C. erecta* e *C. benghalensis*, respectivamente. Em particular Bochkov et al. (2012) refere teores de 7,33% (massa seca) deste ácido em caules de *C. benghalensis*.

Com concentrações superiores ao ácido shiquímico, o ácido oxálico foi o composto maioritário em todas partes edíveis avaliadas. No entanto é importante referir que o consumo excessivo de oxalatos pode fomentar morbidades como pedra nos rins e irritações na mucosa intestinal (Benevides *et al.*, 2011). Em contrapartida, relaciona-se que o ácido oxálico tem papel importante no metabolismo de lípidos, glúcidos e proteínas por meio da atuação no ciclo de Krebs, juntamente com demais ácidos orgânicos, como o ácido málico (Santos, 2013).

Com concentrações próximas ao shiquímico o ácido málico apresentou um valor médio de 87,14 mg/100 g mf nas partes edíveis avaliadas, sendo atribuído a este composto um potencial antioxidante devido ao seu poder quelante de metais (Oliveira *et al.*, 2008). Estudos realizados por Fibrich (2020) reportaram a presença de ácido ascórbico (vitamina C) em partes constituintes de *C. benghalensis*, o que se confirma no presente estudo onde a parte aérea folha pós-floração de *C. benghalensis* foi a que apresentou teores mais elevados ( $14,43 \pm 0,01$  g/100 g mf) frente às demais. No entanto, refira-se que não se detetou a presença de ácido ascórbico na folha de *C. erecta* no período de floração, verificando-se que o teor deste ácido orgânico tem tendência a aumentar quando as amostras foram colhidas no período de pós-floração. Maioritariamente as amostras em estudo apresentaram diferença estatística ao nível de 5% de significância no teste HSD de Tukey.

**Tabela 7** – Composição de ácidos orgânicos partes aéreas *C. erecta* e *C. benghalensis*.

	Oxálico (mg/100g mf)	Málico (mg/100g mf)	Shiquímico (mg/100g mf)	Ascórbico (mg/100g mf)	Ácidos orgânicos totais (mg/100g mf)
<i>C. erecta</i>					
Caule na floração	256,8±0,1 <sup>e</sup>	160±2 <sup>a</sup>	41,4±0,1 <sup>d</sup>	2,18±0,09 <sup>d</sup>	460±2 <sup>d</sup>
Caule pós floração	507±1 <sup>a</sup>	84±2 <sup>c</sup>	98,06±0,01 <sup>b</sup>	9,5±0,8 <sup>b</sup>	699±1 <sup>a</sup>
Folha na floração	208±2 <sup>f</sup>	68±1 <sup>d</sup>	9,6±0,1 <sup>e</sup>	v	285±2 <sup>e</sup>
Folha pós floração	383±1 <sup>d</sup>	39±1 <sup>e</sup>	98,1±0,2 <sup>b</sup>	7,1±0,1 <sup>c</sup>	527±2 <sup>c</sup>
<i>C. benghalensis</i>					
Caule pós floração	467±2 <sup>b</sup>	89,9±4 <sup>b</sup>	98,9±0,7 <sup>a</sup>	1,9±0,1 <sup>d</sup>	191±5 <sup>f</sup>
Folha pós floração	438±2 <sup>c</sup>	82±5 <sup>c</sup>	56,7±0,1 <sup>c</sup>	14,4±0,1 <sup>a</sup>	591±4 <sup>b</sup>

mf – massa fresca; v – vestígios. Os resultados estão expressos em média±desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna mostram diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste HSD de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Os resultados obtidos para a análise do perfil em ácidos gordos encontram-se apresentado na **Tabela 8**. No total foram identificados 18 ácidos gordos, destacando-se como grupo maioritário os ácidos gordos polinsaturados (PUFA), seguindo-se os ácidos gordos saturados (SFA) e em quantidades menores os monoinsaturados (MUFA). Verificou-se a existência de diferenças estatisticamente significativas para a maioria das amostras em todos os grupos referidos, existindo uma variação de valores considerável no que respeita os PUFA (entre 44,8% e 62,7%) e SFA (26,4% e 44,4%). Em ambas as trapoerabas estudadas verificou-se que o teor de PUFA foi nitidamente superior na folha comparativamente ao caule, ocorrendo o contrário para o grupo dos SFA. Em particular, o caule apresentou um teor elevado de ácido linoleico (C18:2n6c, cerca de 18% em ambas as espécies) enquanto que a folha apresenta um teor elevado de ácido alfa-linolénico (C18:3n3, cerca de 43% em ambas as espécies). Ambos os ácidos gordos polinsaturados mencionados são responsáveis pelo cumprimento de funções importantes sobre processos metabólicos e estruturais em células, de modo que em humanos são necessários para o funcionamento adequando de vias de transferência de oxigénio ao plasma sanguíneo, síntese de hemoglobina e na divisão celular, sendo caracterizados como essenciais uma vez que não são sintetizados pelo organismo humano (Martin et al., 2006). No entanto, pode concluir-se que o perfil em ácidos gordos se mostra mais benéfico nas folhas, sendo de aconselhar o consumo desta parte da planta dado o teor elevado em ácidos gordos ómega-3, associados à diminuição do risco de doenças cardiovasculares.

**Tabela 8** - Composição em ácidos gordos (% relativa) das partes aéreas de *C. erecta* e *C. benghalensis*.

	<i>C. erecta</i>				<i>C. benghalensis</i>	
	Caule na floração	Caule pós floração	Folha na floração	Folha pós floração	Caule pós floração	Folha pós floração
C6:0	0,36±0,01	nd	nd	nd	nd	nd
C8:0	0,11±0,01	nd	nd	nd	nd	nd
C11:0	0,12±0,01	nd	nd	nd	nd	nd
C12:0	nd	nd	nd	nd	0,12±0,01	0,04±0,01
C13:0	0,48±0,01	nd	0,76±0,04	1,08±0,01	nd	1,34±0,03
C14:0	0,45±0,01	nd	0,33±0,01	nd	0,33±0,01	0,80±0,02
C15:0	0,31±0,02	nd	nd	nd	0,32±0,01	0,29±0,01
C16:0	23,31±0,01	30,51±0,05	21,9±0,2	16,60±0,07	27,0±0,4	21,7±0,4
C16:1	2,08±0,04	0,94±0,01	2,8±0,1	nd	0,44±0,01	1,93±0,02
C17:0	0,99±0,01	0,65±0,01	nd	nd	0,64±0,01	0,42±0,01
C18:0	6,41±0,08	4,60±0,05	4,28±0,02	4,91±0,05	4,77±0,05	3,64±0,06
C18:1n9c	15,1±0,1	8,11±0,07	4,22±0,04	10,9±0,1	7,25±0,01	5,7±0,2
C18:2n6c	26,95±0,04	28,5±0,1	19,24±0,02	20,03±0,02	33,6±0,2	16,8±0,4
C18:3n3	17,9±0,2	18,17±0,05	43,6±0,3	42,74±0,08	17,3±0,4	43,6±0,6
C20:0	0,95±0,01	nd	1,72±0,08	1,57±0,08	0,99±0,01	2,22±0,01
C22:0	1,68±0,04	2,70±0,09	nd	nd	2,42±0,03	0,31±0,01
C23:0	1,11±0,03	2,48±0,01	nd	nd	1,02±0,01	1,22±0,01
C24:0	1,82±0,02	3,50±0,06	1,25±0,01	2,27±0,01	3,1±0,1	nd
<b>SFA (%)</b>	38,11±0,01 <sup>c</sup>	44,4±0,2 <sup>a</sup>	30,2±0,2 <sup>e</sup>	26,37±0,08 <sup>f</sup>	41,4±0,2 <sup>b</sup>	32,0±0,6 <sup>d</sup>
<b>MUFA (%)</b>	17,1±0,2 <sup>a</sup>	9,06±0,06 <sup>c</sup>	7,0±0,2 <sup>e</sup>	10,9±0,1 <sup>b</sup>	7,70±0,01 <sup>d</sup>	7,7±0,2 <sup>d</sup>
<b>PUFA (%)</b>	44,8±0,1 <sup>e</sup>	46,5±0,2 <sup>d</sup>	62,8±0,3 <sup>a</sup>	62,77±0,06 <sup>a</sup>	50,9±0,2 <sup>c</sup>	60,4±0,3 <sup>b</sup>

Os resultados estão expressos em média±desvio padrão. nd- não detetado. SFA – ácidos gordos saturados; MUFA – ácidos gordos monoinsaturados; PUFA – ácidos gordos polinsaturados. Letras diferentes na mesma linha mostram diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste HSD de Tukey ( $p < 0.05$ ). Ácidos caprílico (C6:0); caprílico (C8:0), hendecanoico (C11:0), láurico (C12:0), tridecanoico (C13:0), mirístico (C14:0), pentadecanoico (C15:0), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), heptadecanoico (C17:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1n9c), linoleico (C18:2n6c), alfa-linolénico (C18:3n3) araquídico (C20:0), beénico (C22:0), e lignocérico (C24:0).

A vitamina E abrange um conjunto de compostos lipossolúveis (tocoferóis e tocotrienóis), quimicamente semelhantes que partilham uma estrutura química base com quatro conformações, as quais diferem entre si no número e posição dos grupos metilo no anel aromático. De modo geral a vitamina E funciona como agente antioxidante *in vivo* prevenindo a propagação de possíveis danos ocasionados por radicais livres, assim protegendo diversas moléculas, entre elas os ácidos gordos polinsaturados (PUFA), contribuindo ainda para a estabilização dos ácidos gordos em alimentos, prevenindo a rancificação durante o armazenamento. A identificação e quantificação dos tocoferóis encontrados partes de *C. erecta* e *C. benghalensis* encontra-se apresentada na **Tabela 9**. Refira-se que o presente trabalho consiste no primeiro a detalhar as diferentes isoformas da vitamina E nas partes aéreas edíveis destas espécies de *Commelina*.

Relativamente ao conteúdo total em tocoferóis, a espécie *C. benghalensis* apresentou um teor superior a *C. erecta*, sendo que a amostra de folhas pós-floração de

*C. benghalensis* apresentou uma quantidade muito superior às demais partes aéreas avaliadas. Nesta amostra foram identificadas todas as isoformas, com quantidades expressivas de  $\alpha$ -tocoferol ( $230 \pm 2 \mu\text{g}/100 \text{ g mf}$ ) e  $\gamma$ -tocoferol ( $306 \pm 2 \mu\text{g}/100 \text{ g mf}$ ). Enquanto nas amostras de *C. erecta* o vitâmero maioritário foi o  $\alpha$ -tocoferol, à exceção da amostra caule na floração, nas amostras de *C. benghalensis* foi o  $\gamma$ -tocoferol. O  $\alpha$ -tocoferol é frequentemente designado como vitâmero principal devido à sua abundância e ampla atividade biológica quando comparado aos demais tocoferóis (Fennema, 2000), no entanto diversas propriedades benéficas, tais como anti-inflamatória, antineoplásica e antidiurética têm sido atribuídas ao  $\gamma$ -tocoferol (Li et al., 2007). Em ambas as espécies as folhas apresentaram conteúdo total de tocoferóis superior ao verificado no caule o que pode estar relacionado com o maior conteúdo em PUFA destas amostras.

**Tabela 9** - Tocoferóis presentes em partes aéreas de *C. erecta* e *C. benghalensis* (média  $\pm$  DP, n=3).

	$\alpha$ -tocoferol ( $\mu\text{g}/100 \text{ g mf}$ )	$\beta$ -tocoferol ( $\mu\text{g}/100 \text{ g mf}$ )	$\gamma$ -tocoferol ( $\mu\text{g}/100 \text{ g mf}$ )	$\delta$ -tocoferol ( $\mu\text{g}/100 \text{ g mf}$ )	Total ( $\mu\text{g}/100 \text{ g mf}$ )
<i>C. erecta</i>					
Caule na floração	2,14 $\pm$ 0,05 <sup>e</sup>	6,8 $\pm$ 0,3 <sup>e</sup>	21,2 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	nd	30,1 $\pm$ 0,5 <sup>e</sup>
Caule pós floração	6,3 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>	5,8 $\pm$ 0,3 <sup>f</sup>	9,5 $\pm$ 0,4 <sup>e</sup>	nd	21,7 $\pm$ 0,8 <sup>f</sup>
Folha na floração	17,0 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	13,8 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	12,4 $\pm$ 0,4 <sup>d</sup>	10,2 $\pm$ 0,4	53,4 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>
Folha pós floração	15,9 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	12,7 $\pm$ 0,9 <sup>d</sup>	8,4 $\pm$ 0,4 <sup>f</sup>	nd	37,00 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>
<i>C. benghalensis</i>					
Caule pós floração	2,23 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>	16,1 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	41,3 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	nd	59,6 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>
Folha pós floração	230 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	17,8 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	306 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	17,4 $\pm$ 0,3	571,5 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>

Os resultados estão expressos em média $\pm$ desvio padrão. nd- não detetado. Letras diferentes na mesma coluna mostram diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste HSD de Tukey ( $p < 0.05$ ).

#### 4.2. Composição em compostos fenólicos

Até à presente data, o estudo detalhado do perfil fenólico de *C. erecta* e *C. benghalensis* não foi muito explorado por outros pesquisadores. De facto, apenas Bezerra et al. (2019) e Otsuka et al. (2020) avaliaram o perfil fenólico do caule de *C. erecta* e em cultura celular, respetivamente, e, no caso de *C. benghalensis*, não foram encontrados relatos na literatura. A **Tabela 10** apresenta os resultados da análise cromatográfica e identificação experimental dos compostos fenólicos encontrados nos extratos hidroetanólico e aquosa das amostras estudadas, apresentando a **Tabela 11** a quantificação correspondente.

Foram detetados treze compostos, nomeadamente dez derivados C-glicosilados da apigenina, luteolina e daidzina (puerarina) e três derivados O-glicosilados da quercetina.

Os derivados *C*-glicosilados representam 77% do total de compostos encontrados em ambas as amostras de Trapoeraba, principalmente devido à presença de derivados da apigenina seguida de luteolina. Os picos **1** e **2** apresentaram o mesmo íon desprotonado  $[M-H]^-$  com  $m/z$  593, porém pertencem a diferentes categorias, o pico **1** pode ser classificado como um flavonóide-mono-*C*-glicosídeo-*O*-glicosídeo enquanto o pico **2** é um flavonóide-di-*C*-glicosídeo (Ferrerres et al., 2018). O pico **2**, além dos espectro UV característico, também apresentou fragmentos  $MS^2$  característicos da aglicona apigenina (269 u) com  $m/z$  383 (+ 113 u) e 353 (+ 83 u), e um fragmento maior em  $m/z$  473 (- 120 u) que, juntamente com a massa da molécula, indica a presença de duas unidades de hexose, sendo provisoriamente identificada como apigenina-6,8-di-*C*-hexósido. Por outro lado, no pico **1** foi possível observar fragmentos  $MS^2$  característicos da mono-*C*-glicosilação da molécula em  $m/z$  311 que corresponde à soma da aglicona apigenina (270 MW) com 41 u, assim como a presença de fragmentos em  $m/z$  503 (-90 u) e 473 (- 120 u) correspondente à unidade hexosil ligada à ligação de *C*. Além disso, observa-se também o pico de base em  $m/z$  431 (- 162 u) que corresponde à *O*-hexosilação sobre um hidroxilo fenólico (Ferrerres et al., 2018), e dessa forma este pico foi tentativamente identificado como apigenina-7-*O*-hexosil-8-*C*-hexósido. O pico **9**, também um di-*C*-glicosídeo, apresentou os fragmentos característicos em  $m/z$  383 (- 90 u) e 353 (- 60 u) da aglicona apigenina que também corresponde à clivagem da ligação glicosídica da *C*-8-pentose. Além disso, com um íon desprotonado  $[M-H]^-$  com  $m/z$  533, um pico de base com  $m/z$  443 (- 90u), e outro fragmento de MS em  $m/z$  473 (- 60 u), pode-se também inferir que outra porção de *C*-pentosil está ligada à molécula. Com todas estas informações, e comparando com os resultados descritos por Cao et al. (2014) o pico **9** foi identificado como apigenina-6,8-di-*C*-pentósido.

Os picos **5** e **6** também apresentaram o mesmo íon molecular desprotonado  $[M-H]^-$  em  $m/z$  563, fragmentos característicos em  $m/z$  383 e 353 (apigeninaaglicona), um fragmento iônico maior em  $m/z$  443 (perda de 120 u, unidade hexosil) e um fragmento em  $m/z$  503 (perda de - 60 u, unidade pentosil). A diferenciação entre os dois picos foi realizada levando-se em conta a abundância da perda de -60 u ( $m/z$  503). Nomeadamente, de acordo com Ferrerres et al. (2018), uma grande abundância indica que a unidade pentosil está localizada na posição 6-*C* uma vez que a fração de açúcar sofre uma fragmentação preferencial em comparação com a localizada na posição 8-*C*. Desta forma, os picos **5** e **6** foram tentativamente identificados como apigenina 6-*C*-hexosil-8-*C*-

pentósido (12% abundância de fragmento em  $m/z$  503) e apigenina 6-*C*-pentosil-8-*C*-hexosido (71% abundância de fragmento em  $m/z$  503), respectivamente.

Os picos **3/4** e **7/8** foram tentativamente identificados seguindo a descrição relatada por Figueirinha et al. (2008) e Ferreres et al. (2003). Os picos **3/4** apresentaram um íon molecular  $[M-H]^-$  com  $m/z$  579, alta abundância de fragmentos  $MS^2$  em  $m/z$  489 (- 90 u) e 459 (- 120 u), o que sugeriu a posição 6-*C* da unidade hexosil, e baixa abundância dos fragmentos em  $m/z$  519 (- 60 u), 399 (- 120 u - 60 u), e 369 (- 120 u - 90 u), corroborando com a unidade *C*-pentosil. A presença de  $m/z$  399 (285 u + 83 u) e 369 (285 u + 113 u) está em conformidade com a presença de uma flavona tetrahidroxilada (luteolinaaglicona,  $m/z$  285), sendo tentativamente identificada como luteolina-6-*C*-hexosil-8-*C*-pentosídeo I (pico **3**) e II (pico **4**).

O pico **10**, tentativamente identificado como hidroxipuerarina, foi incluído nos derivados *C*-glicosilados, uma vez que é a forma *C*-glicosilada da isoflavona daidzina. Este pico apresentou uma molécula desprotonada  $[M-H]^-$  com  $m/z$  431 e um fragmento  $MS^2$  proeminente em  $m/z$  311 que correspondeu à perda de 120 u, perda de massa característica de moléculas *C*-glicosiladas. A fragmentação de massa remanescente e as respostas dos espectros UV foram utilizadas para a identificação provisória deste composto, estando de acordo com informações anteriormente relatadas (Niu et al., 2012; Prasain et al., 2007).

Finalmente, para os derivados *O*-glicosilados, o pico **11** ( $[M-H]^-$  em  $m/z$  463) foi identificado como quercetina-3-*O*-hexósido por comparação com o tempo de retenção e os espectros UV-vis do composto padrão disponível. O pico **12** apresentou uma molécula desprotonada  $[M-H]^-$  em  $m/z$  549, e fragmentos  $MS^2$  subsequentes em  $m/z$  505, 463 e 301 (quercetina aglicona), correspondendo à perda de um malonil (44 u + 42 u) e metades hexosil (162 u), sendo provisoriamente identificado como quercetina-*O*-malonilhexosídeo. O pico **13** ( $[M-H]^-$  em  $m/z$  447) apresentou uma resposta de massa mais simples com apenas um fragmento  $MS^2$  em  $m/z$  301 (146 u), sendo provisoriamente identificado como quercetina-*O*-deoxihexosídeo.

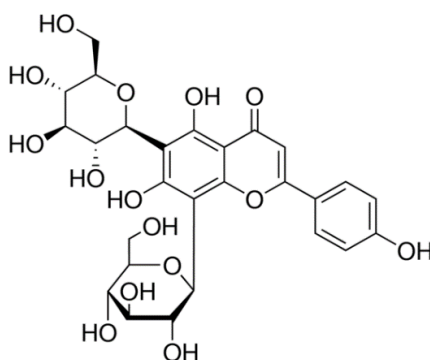
Em todas as amostras estudadas verificou-se a presença de derivados da apigenina, enquanto os derivados de luteolina foram detetados apenas no caule de *C. erecta* e nas folhas de *C. benghalensis*. Como relatado por Martínez e Swain (1985), verificou-se a predominância de *C*-glicosídeos de flavonas nas trapoerabas em estudo, em especial no extrato aquoso de caule de *C. erecta* na floração, o qual apresentou concentração média

de  $9,489 \pm 0,005$  g/mg, com diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) face às demais partes edíveis. Apesar de no presente estudo se ter verificado a presença de O-glicosídeos de flavonóis, nomeadamente derivados da quercetina, foram detetados apenas traços dos compostos em 57% das partes aéreas analisadas, obtendo-se valores  $> \text{LOQ}$  apenas para as amostras de extrato aquoso de caule na floração pertencentes a *C. erecta*.

A presença de heterósidos de quercetina, mais especificamente, quercetina-3-O-hexósido, quercetina-O-malonil-hexósido e quercetina-O-deoxihexósido, está de acordo com os dados previamente reportados por Bezerra et al. (2019) que identificam a presença de quercitrina e isoquercitrina no caule de *C. erecta*. No mesmo estudo, recorrendo a espectrometria de massa e RMN, os autores identificam também a presença de luteolina, a qual foi identificada neste estudo na forma de derivados heterosídicos. No entanto, na maior parte das amostras analisadas verificaram-se apenas traços destes compostos, tendo sido possível realizar a sua quantificação apenas no extrato aquoso de caule na floração de *C. erecta* e nos extratos de *C. benghalensis*. Em ambos os casos verificou-se que o composto fenólico com maior concentração foi um derivado de luteolina.

Na composição em compostos fenólicos, é de salientar a identificação de vários derivados de apigenina (**Figura 6**) os quais são reportados pela primeira vez em ambas as espécies de *Commelina* estudadas. A apigenina foi a aglicona com maior frequência entre as partes edíveis avaliadas, estando pelo menos um dos seus derivados presente em todas as amostras avaliadas. Estudos recentes denotam a apigenina como composto fenólico de grande potencial nutracêutico sendo capaz de atuar como sequestradora de radicais livres, neuroprotetores e frente ao desenvolvimento de cancro (Hang et al., 2021).

Por último refira-se que para as flores, que caracteristicamente apresentam cor azul, precedeu-se à análise de antocianinas, não tendo sido detetada a sua presença.



**Figura 6** - Molécula de Apigenina-6,8-di-C-hexoside.

**Tabela 10** - Tempo de retenção (Rt), comprimentos de onda de absorção máxima ( $\lambda_{\max}$ ) e dados espectrais de massa dos compostos fenólicos presentes nos extratos de *C. erecta* e *C. benghalensis*.

Pico	Rt (min)	$\lambda_{\max}$ (nm)	[M-H] <sup>-</sup> (m/z)	MS <sup>2</sup> (m/z)	Tentativa de identificação
1	7,19	324	593	503(31),473(10),431(100),311(14)	Apigenina-7- <i>O</i> -hexosil-8- <i>C</i> -hexosídeo
2	8,74	272/327	593	533(10),503(61),473(100),413(11),383(25),353(32)	Apigenina-6,8-di- <i>C</i> -hexoside
3	9,24	271/345	579	561(11),519(19),489(23),459(100),399(31),369(15)	Derivado I de luteolina-6- <i>C</i> -hexosila-8- <i>C</i> -pentosídeo
4	10,19	270/343	579	561(12),519(13),489(45),459(100),399(39),369(11)	Derivado II de luteolino-6- <i>C</i> -hexosilo-8- <i>C</i> -pentosídeo
5	12,15	272/331	563	503(12),443(100),383(23),353(32)	Apigenina 6- <i>C</i> -hexosil-8- <i>C</i> -pentoside
6	13,19	272/327	563	503(71),443(100),383(34),353(63)	Apigenina 6- <i>C</i> -pentosil-8- <i>C</i> -hexoside
7	14,18	271/343	549	531(18),489(32),459(100),441(23),429(13),399(23),369(22)	Derivado I de luteolina-6- <i>C</i> -pentosil-8- <i>C</i> -pentosídeo
8	15,89	271/342	549	531(23),489(34),459(100),441(18),429(5),399(35),369(36)	Derivado II de luteolina-6- <i>C</i> -pentosil-8- <i>C</i> -pentosídeo
9	16,16	272/328	533	515(52),473(71),443(100),383(28),353(25)	Apigenina-6,8-di- <i>C</i> -pentoside
10	17,09	335	431	311(30),283(100)	Hidroxi-Puerarin
11	17,96	327	463	301(100)	Quercetina-3- <i>O</i> -hexoside
12	19,21	320	549	505(10),463(32),301(100)	Quercetina- <i>O</i> -malonil-hexoside
13	21,19	325	447	301(100)	Quercetina- <i>O</i> -deoxihexosídeo

A identificação dos compostos fenólicos foi realizada com base no seu comportamento cromatográfico e espectros de UV-vis e de massa por comparação com compostos padrão, quando disponíveis, e dados relatados na literatura resultando numa identificação tentativa.

**Tabela 11** – Quantificação (mg/g de extrato) dos compostos fenólicos presentes nos extratos de *C. erecta* e *C. benghalensis* (identificação dos picos como consta na Tabela 10).

Pico	<i>C. erecta</i>						<i>C. benghalensis</i>							
	Caule na floração		Caule pós floração		Folha na floração		Folha pós floração		Flor		Caule na floração		Folha pós floração	
	Aquoso	HidroA	Aquoso	HidroA.	Aquoso	HidroA.	Aquoso	HidroA.	Aquoso	HidroA.	Aquoso	HidroA.	Aquoso	HidroA.
1*	nd	nd	nd	nd	nd	0,334±0,07	nd	nd	0,536±0,009	nd	nd	nd	nd	nd
2	0,396±0,002 <sup>a</sup>	nd	0,09±0,002 <sup>h</sup>	0,22±0,004 <sup>f</sup>	0,284±0,003 <sup>d</sup>	0,33±0,03 <sup>b</sup>	0,322±0,029 <sup>b</sup>	0,171±0,004 <sup>g</sup>	0,315±0,006 <sup>c</sup>	0,258±0,005 <sup>e</sup>	0,0290±0,0001 <sup>i</sup>	nd	0,313±0,01 <sup>c</sup>	nd
3	tr	nd	tr	nd	tr	nd	nd	nd	nd	nd	tr	tr	3,04±0,023	tr
4*	0,384±0,009	tr	nd	tr	tr	nd	nd	tr	tr	nd	tr	tr	0,095±0,004	nd
5	2,961±0,061 <sup>a</sup>	0,385±0,018 <sup>c</sup>	nd	0,235±0,004 <sup>f</sup>	0,258±0,001 <sup>e</sup>	0,39±0,02 <sup>c</sup>	0,184±0,004 <sup>g</sup>	0,088±0,001 <sup>h</sup>	0,233±0,008 <sup>f</sup>	0,322±0,007 <sup>d</sup>	0,076±0,001 <sup>h</sup>	tr	0,894±0,003 <sup>b</sup>	0,242±0,008 <sup>f</sup>
6	1,485±0,005 <sup>a</sup>	0,124±0,005 <sup>f</sup>	nd	0,258±0,01 <sup>d</sup>	0,21±0,003 <sup>e</sup>	0,294±0,032 <sup>c</sup>	nd	nd	nd	0,452±0,009 <sup>b</sup>	nd	nd	nd	nd
7*	3,265±0,011	tr	nd	tr	nd	tr	nd	tr	nd	nd	tr	tr	tr	1,293±0,073
8*	0,468±0,033	tr	nd	tr	nd	nd	tr	tr	nd	nd	tr	tr	0,236±0,009	nd
9	0,891±0,009 <sup>a</sup>	0,17±0,003 <sup>f</sup>	nd	nd	0,349±0,001 <sup>d</sup>	nd	nd	nd	0,327±0,003 <sup>e</sup>	nd	0,106±0,006 <sup>g</sup>	0,038±0,002 <sup>h</sup>	0,38±0,001 <sup>c</sup>	0,405±0,014 <sup>b</sup>
10	nd	nd	nd	nd	nd	0,772±0,042 <sup>a</sup>	nd	nd	nd	0,536±0,033 <sup>b</sup>	0,0042±0,0001 <sup>c</sup>	tr	nd	nd
11	0,237±0,015	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	tr	tr	nd	tr
12	0,064±0,001	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	tr	nd	tr
13	0,104±0,009	nd	nd	tr	tr	nd	tr	tr	nd	nd	nd	nd	tr	nd
CTF	10,255±0,001 <sup>a</sup>	0,679±0,02 <sup>i</sup>	0,09±0,002 <sup>m</sup>	0,714±0,019 <sup>h</sup>	1,1025±0,0003 <sup>s</sup>	2,125±0,149 <sup>c</sup>	0,506±0,024 <sup>j</sup>	0,259±0,005 <sup>k</sup>	1,41±0,02 <sup>f</sup>	1,568±0,022 <sup>e</sup>	0,215±0,007 <sup>l</sup>	0,038±0,002 <sup>n</sup>	4,958±0,05 <sup>b</sup>	1,94±0,078 <sup>d</sup>
TCGF	9,849±0,005 <sup>a</sup>	0,679±0,02 <sup>i</sup>	0,09±0,002 <sup>m</sup>	0,714±0,019 <sup>h</sup>	1,102±0,0003 <sup>f</sup>	2,125±0,149 <sup>c</sup>	0,506±0,024 <sup>j</sup>	0,259±0,005 <sup>k</sup>	1,41±0,02 <sup>e</sup>	1,568±0,022 <sup>g</sup>	0,215±0,007 <sup>l</sup>	0,038±0,002 <sup>n</sup>	4,958±0,05 <sup>b</sup>	1,94±0,078 <sup>d</sup>
TOGF	0,406±0,005	nd	nd	tr	tr	nd	tr	tr	nd	nd	tr	tr	tr	tr

nd – não detectado; tr – traços; HidroA. – extrato hidroetanólico; CTF – Composição total de Flavonoides; TCGF - Total de C-Glicosídeos de Flavonoides; TOGF - Total de O-Glicosídeos de flavonoides. Padrão de curvas de calibração utilizadas para quantificação: apigenina-6-C-glicosídeo ( $y = 197337x + 30036$ ,  $R^2 = 0,9997$ ; LOD = 0,19 µg/mL; LOQ = 0,63 µg/mL, picos 1, 2, 5, 6, e 9), daidzin ( $y = 27652x + 29187$ ,  $R^2 = 0,9996$ ; LOD = 20,58 µg/mL; LOQ = 62,35 µg/mL, pico 10), e luteolina-6-C-glicosídeo ( $y = 4087,1x + 72589$ ,  $R^2 = 0,999$ , LOD=0,86 µg/mL; LOQ=1,67 µg/mL, picos 3, 4, 7, e 8). Análise ANOVA – I Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). \* - *t*-student teste  $p$ -valor <0,001.

### 4.3. Propriedades bioativas

#### 4.3.1. Atividade antioxidante

Atualmente, encontram-se descritas diversas metodologias que podem ser aplicadas para a avaliação da capacidade antioxidante. Contudo, não existe um método genérico preciso que avalie de forma homologa diferentes amostras. Adicionalmente, vários métodos disponíveis baseiam-se na utilização de compostos que não existem no contexto celular (por exemplo, DPPH). Deste modo para avaliar a capacidade de prevenir e retardar oxidações moleculares aplicaram-se dois métodos distintos, nomeadamente a inibição da peroxidação lipídica (TBARS) e inibição da hemólise oxidativa (OxHLIA). Os resultados obtidos para partes aéreas de ambas as plantas estão apresentados na **Tabela 12**, sendo expressos em valores de EC<sub>50</sub> (mg/mL).

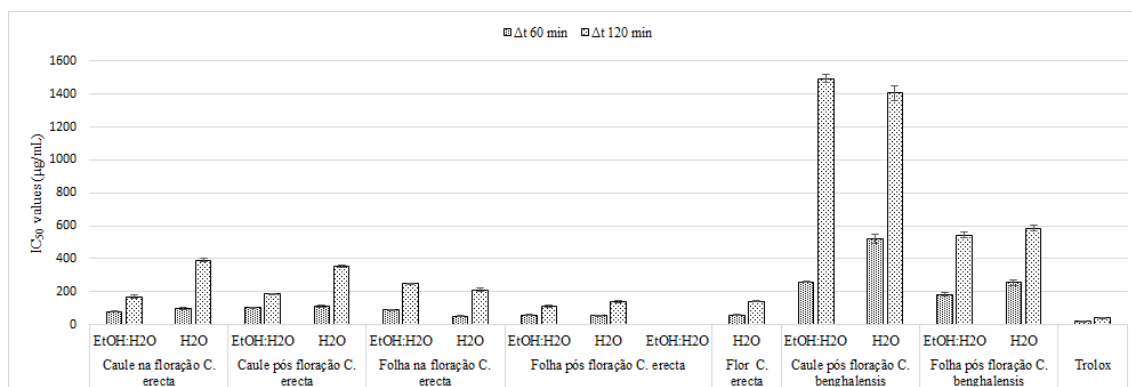
**Tabela 12** - Atividade antioxidante dos extratos obtidos das partes aéreas de *C. erecta* e *C. benghalensis* (média ± DP, n=9).

	TBARS inibição da formação (EC <sub>50</sub> ; mg/mL)		OxHLIA (EC <sub>50</sub> ; mg/mL)			
			Δt = 60 min		Δt = 120 min	
	Extrato Aquoso	Extrato Hidroetanólicos	Extrato Aquoso	Extrato Hidroetanólicos	Extrato Aquoso	Extrato Hidroetanólicos
<i>C. erecta</i>						
Caule na floração	0,08±0,01 <sup>d</sup>	0,08±0,01 <sup>b</sup>	0,09±0,01	0,07±0,01	0,39±0,01	0,16±0,01
Caule pós floração	0,02±0,01 <sup>e</sup>	0,64±0,01 <sup>e</sup>	0,12±0,01	0,10±0,01	0,35±0,01	0,18±0,01
Folha na floração	0,06±0,01 <sup>d</sup>	1,06±0,08 <sup>d</sup>	0,05±0,01	0,09±0,01	0,21±0,01	0,25±0,01
Folha pós floração	0,06±0,01 <sup>d</sup>	0,06±0,01 <sup>f</sup>	0,06±0,01	0,06±0,01	0,14±0,01	0,11±0,01
Flor	1,15±0,05 <sup>a</sup>	0,99±0,04 <sup>a</sup>	0,06±0,01	0,005±0,01	0,14±0,01	nd
<i>C. benghalensis</i>						
Caule pós floração	0,69±0,02 <sup>b</sup>	1,21±0,08 <sup>c</sup>	0,52±0,03	0,26±0,01	1,04±0,04	1,49±0,02
Folha pós floração	0,63±0,01 <sup>c</sup>	0,04±0,01 <sup>f</sup>	0,25±0,02	0,18±0,01	0,59±0,02	0,54±0,02
Controle positivo						
Trolox	0,0054±0,0003		0,0218±0,0002		0,0435±0,0008	

Os resultados estão expressos em média±desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna mostram diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste HSD de Tukey ( $p < 0.05$ ). nd – Não detectado. A atividade antioxidante foi expressa em valores de EC<sub>50</sub>, o que significa que valores elevados correspondem abaixo poder redutor ou potencial antioxidante.

Relativamente aos valores de EC<sub>50</sub> obtidos, os extratos revelaram um potencial antioxidante promissor em todos os ensaios realizados. Para facilitar a interpretação da **Tabela 12** elaborou-se a **Figura 7** com intuito de melhor visualização dos resultados

referente à análise de OxHLIA, na qual as menores barras representam as partes edíveis com melhor resultado frente à presente análise.



**Figura 7** – Resultados gráficos de OxHLIA para extratos hidroetanólico e aquoso de *C. erecta* e *C. Benghalensis*.

Entre as partes aéreas avaliadas o extrato hidroetanólico da flor foi a que apresentou melhor atividade antioxidante. Analisando os resultados do perfil em compostos fenólicos verifica-se que foi a parte aérea com maior concentração em apigenina-7-*O*-hexosil-8-*C*-hexosídeo, o que poderá estar relacionado com a elevada capacidade antioxidante deste extrato.

Para as amostras de *C. benghalensis* verificou-se que em ambos os ensaios, TBARS e OxHLIA, o extrato hidroetanólico da folha foi o que apresentou melhores resultados. No entanto, para esta espécie o extrato aquoso da folha foi o que apresentou um teor superior de compostos fenólicos, o que poderá indicar que outros compostos presentes possam contribuir para a atividade biológica da planta. Através de uma visão global da análise antioxidante realizada percebe-se ainda que, apesar do extrato aquoso do caule de *C. erecta* na floração ter sido a parte edível com maior quantidade de compostos fenólicos identificados, não foi a amostra que apresentou melhor resultado nos ensaios de atividade antioxidante.

De modo geral a ação antioxidante de ambas trapoerabas pode estar diretamente associada a outros compostos tais como terpenos, alcaloides, que possam exercer uma ação sinérgica com ácidos orgânicos, como o ácido shiquímico, e compostos fenólicos e (Fibrich & Lall, 2020; Mummmed et al., 2018). Em estudos realizados por Bezerra *et al.* (2019) relativamente à atividade antioxidante presente no caule de *C. erecta*, os resultados apresentaram reduzida eliminação do radical DPPH e pouca atividade no ensaio do ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS). Já em amostras de *C. benghalensis*, estudos quanto a partes aéreas do vegetal evidenciaram

uma atividade antioxidante elevada demonstrada por um baixo valor de IC<sub>50</sub> (21.53 µg/mL) no ensaio de captação dos radicais DPPH (Hasan *et al.*, 2009).

#### 4.3.2. Atividade citotóxica e anti-inflamatória

Dado que o cancro é uma doença com crescente incidência entre os seres humanos, há um considerável interesse em determinar novos compostos naturais com atividade anticancerígena (Anand *et al.*, 2008). Deste modo as partes aéreas de *C. erecta* e *C. benghalensis* foram submetidas a análises de citotóxicidade frente a diferentes linhas celulares sendo os resultados obtidos apresentados na **Tabela 13**.

**Tabela 13** - Citotoxicidade em linhas celulares dos extratos obtidos de partes edíveis de *C. erecta* e *C. benghalensis*.

Citotoxicidade nas linhas celulares (GI50 µg/mL) <sup>b</sup>		AGS	CaCo	MCF-7	NCL-H460	
<i>Extrato aquoso</i>						
<i>C. erecta</i>	Caule na floração	>400	>400	>400	>400	
	Caule pós floração	>400	>400	>400	>400	
	Folha na floração	>400	>400	>400	>400	
	Folha pós floração	>400	>400	>400	>400	
	Flor	>400	>400	>400	>400	
	<i>Extrato hidroetanólico</i>					
	Caule na floração	222±8	195±1	135±4	155±11	
	Caule pós floração	>400	>400	>400	>400	
	Folha na floração	>400	>400	>400	>400	
	Folha pós floração	>400	>400	>400	>400	
Flor	288±59	294±2	84±1	193±12		
<i>Extrato aquoso</i>						
<i>C. benghalensis</i>	Caule na floração	>400	>400	>400	>400	
	Folha pós floração	>400	>400	>400	>400	
	<i>Extrato hidroetanólico</i>					
	Caule na floração	>400	>400	>400	>400	
Folha pós floração	>400	>400	>400	>400		
Ellipticine		1,23±0,03	1,21±0,02	1,02±0,02	1,01±0,01	
t-student teste p-valor		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Os resultados estão expressos em média±desvio padrão. Diferenças estatística significativa (p <0,05) foram avaliadas por um teste t de Student. GI50, correspondendo a concentração de amostra necessária para realizar a inibição do crescimento em 50% sob células tumorais humanas. AGS, adenocarcinoma gástrico; CaCo, adenocarcinoma colorretal; NCI-H460, carcinoma do pulmão; MCF-7, carcinoma de mama.

Por meio da avaliação citotóxica *in-vitro* pode-se perceber que apenas o extrato hidroetanólico de *C. erecta*, mais especificamente nas partes áreas flor e caule na floração apresentaram efeitos positivos contra diferentes células cancerígenas. De salientar os resultados obtidos na linha celular MCF-7, tendo-se verificado que uma concentração de  $84 \pm 1 \mu\text{g/mL}$  de extrato de flor foi capaz de inibir 50% do crescimento das células de cancro de mama. Também em estudos prévios realizados por Batool et al. (2020) com diferentes extratos de raiz pertencente a *C. benghalensis* se verificaram efeitos citotóxicos frente ao cancro de mama.

De forma similar a Batool et al. (2020) as amostras de *C. benghalensis* analisadas não denotaram toxicidade em células saudáveis (Vero), conforme os resultados expressos na **Tabela 14**. Contudo os extratos etanólicos das amostras de caule na floração e flor de *C. erecta* apresentaram toxicidade em células de rim de macaco verde africano. Deste modo são necessários estudos adicionais que visem a possibilidade de fracionamento e identificação dos compostos bioativos associados a estas atividades que permitam compreender o potencial ativo e citotóxico do extrato hidroetanólico da flor e caule de *C. erecta*.

**Tabela 14** - Citotoxicidade em linhas não celulares de partes edíveis de *C. erecta* e *C. benghalensis*

Citotoxicidade nas linhas não celulares (GI50 $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>b</sup>	Vero	
<i>C. erecta</i>		
	<i>Extrato aquoso</i>	<i>Extrato hidroetanólico</i>
Caule na floração	>400	112 $\pm$ 3
Caule pós floração	>400	>400
Folha na floração	>400	>400
Folha pós floração	>400	>400
Flor	>400	104,9 $\pm$ 0,3
<i>C. benghalensis</i>		
	<i>Extrato aquoso</i>	<i>Extrato hidroetanólico</i>
Caule na floração	>400	>400
Folha pós floração	>400	>400
Ellipticine	0,15 $\pm$ 0,02	
t-student teste p-valor	<0,001	

Os resultados estão expressos em média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna mostram diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste HSD de Tukey ( $p < 0.05$ ). GI50, correspondendo a concentração de amostra necessária para realizar a inibição do crescimento em 50% sob células não tumorais. Vero, células de rim de macaco verde africano.

Os extratos que apresentaram citotoxicidade contra linhas tumorais foram os mesmos que apresentaram atividade anti-inflamatória frente a linha celular de macrófagos de rato RAW 264.7 (**Tabela 15**). Em particular, a flor pertencente a *C. erecta* denotou bons resultados, dado que baixas concentrações de extrato hidroetanólico ( $41 \pm 1 \mu\text{g/mL}$ ) foram responsáveis por inibir 50% da produção de óxido nítrico.

**Tabela 15** - Atividade anti-inflamatória de partes edíveis de *C. erecta* e *C. benghalensis*

Atividade anti-inflamatória (EC50 $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>c</sup>	RAW	
<i>C. erecta</i>		
	<i>Extrato aquoso</i>	<i>Extrato hidroetanólico</i>
Caule na floração	>400	$157 \pm 7$
Caule pós floração	>400	>400
Folha na floração	>400	>400
Folha pós floração	>400	>400
Flor	>400	$41 \pm 1$
<i>C. benghalensis</i>		
	<i>Extrato aquoso</i>	<i>Extrato hidroetanólico</i>
Caule na floração	>400	>400
Folha pós floração	>400	>400
Ellipticine	$6,3 \pm 0,4$	
t-student teste p-valor	<0,001	

Os resultados estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna mostram diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste HSD de Tukey ( $p < 0,05$ ). EC50, correspondendo a concentração de amostra necessária para atingir 50% da inibição da produção de NO. RAW linha celular de macrófagos de rato.

#### 4.3.3. Atividade antimicrobiana

Os resultados da atividade antimicrobiana obtidos para partes áreas de ambas trapoerabas encontram-se apresentados nas **Tabela 16** e **17**. Como referido anteriormente, testou-se o extrato hidroetanólico e aquoso frente a um painel composto de seis estirpes de bactérias Gram-positivo e negativo, e seis estirpes de fungos, selecionados por apresentarem maior incidência e risco para saúde humana quando associados a doenças de origem alimentar..

Verificou-se que todos os extratos testados apresentaram atividade bacteriostática e bactericida, com valores de CMI que variaram entre 0,25 e 4 mg/mL e valores de CMB entre 0,5 e 4 mg/mL. Para algumas bactérias, alguns extratos ostentaram resultados melhores que os aditivos alimentares usados como controle positivo (Sulfito de sódio e

Metabissulfito de potássio), sendo de destacar os resultados obtidos para as bactérias Gram-positivo. No que respeita a atividade bactericida das diferentes amostras estudadas, a parte edível folha na floração de *C. erecta* denotou os melhores resultados, com ênfase para o poder inibitório face a *Bacillus cereus*, uma vez que a concentração de 0,25 mg/mL de extrato hidroetanólico foi capaz de inibir este microrganismo. De uma forma global, os resultados obtidos estão de acordo com o estudo realizado por Paz et al. (1996) utilizando um extrato aquoso da folha de *C. erecta*, o qual demonstrou ser eficaz contra o crescimento de *E. coli*. Contudo, o mesmo estudo sugeriu a ineficiência do extrato aquoso da folha frente a *S. aureus*, o que diverge dos resultados deste trabalho uma vez que para ambos os extratos de folha pós floração e folha na floração de *C. erecta* se verificou efeito inibitório e bactericida (Tabela 16).

Quanto à parte edível de *C. benghalensis* os resultados obtidos são igualmente satisfatórios dado que foi capaz de inibir todos os microrganismos em estudo, o que contraria os resultados obtidos por Gothandam et al. (2010) no qual o extrato metanólico não apresentou atividade face a *E. coli*. Este facto pode estar associado à solubilidade de diferentes compostos em extratos distintos, uma vez que no presente estudo foram avaliados extratos hidroetanólico e aquoso. Pelo contrário, os resultados aqui obtidos convergiram com os de Cuéllar Cuéllar & Okori (2010) que reportaram atividade inibitória contra *S. aureus* e *E. coli* para o extrato hidroetanólico da folha de *C. benghalensis*. Noutro estudo, Mummed et al. (2018) relata uma baixa eficiência do extrato aquoso de folhas de *C. benghalensis*, sendo necessário uma concentração de 390 mg/mL para inibir *S. aureus*, o que está em desacordo com os resultados aqui obtidos, em que concentrações 1 mg/mL e 2 mg/mL ostentaram poder inibitório e bactericida, respetivamente. Tal divergência pode estar relacionada a fatores sazonais e de stress sofridos pelo vegetal, dado que estes fatores influenciam na formação de compostos secundários em vegetais. Quanto à parte aérea caule de *C. benghalensis*, não existem dados de atividade antimicrobiana reportados, sendo este o primeiro estudo realizado.

Quanto à atividade antifúngica, de uma maneira geral os extratos hidroetanólicos revelaram-se mais eficazes contra as espécies de *Aspergillus* avaliadas, enquanto os extratos aquosos apresentaram melhores resultados face às espécies de *Penicillium* e *Trichoderma viride* (Tabela 17). De salientar que a maioria dos extratos testados apresentou melhor ou resultado idêntico quando comparado com os controlos positivos usados. No presente estudo os resultados para atividade fungicida foram muito

satisfatórios, sendo que, de modo geral, uma concentração foi capaz de inibir 83% dos fungos em estudos.

**Tabela 16** - Atividade antibacteriana do extrato hidroetanólico e aquoso de *C. erecta* e *C. benghalensis*

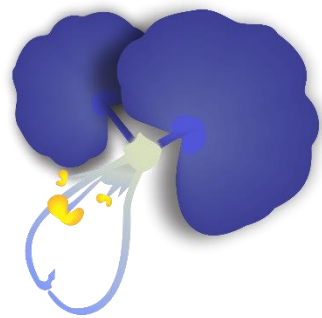
Atividade antibacteriana (mg/mL)		<i>S. a</i>	<i>B. c.</i>	<i>L. m.</i>	<i>E. c.</i>	<i>S. t.</i>	<i>Em. cl.</i>
<b>Extrato hidroetanólico (mg/mL)</b>							
<i>C. erecta</i>							
Caule na floração	CMI	1	0,5	1	0,5	1	1
	CMB	2	1	2	1	2	2
Caule pós floração	CMI	1	0,5	1	0,5	1	1
	CMB	2	1	2	1	2	2
Folha na floração	CMI	0,5	0,25	0,5	0,5	1	0,5
	CMB	1	0,5	1	1	2	1
Folha pós floração	CMI	1	0,5	1	1	1	1
	CMB	2	1	2	2	2	2
Flor	CMI	2	1	1	1	1	1
	CMB	4	2	2	2	2	2
<i>C. benghalensis</i>							
Caule na floração	CMI	1	1	1	1	1	1
	CMB	2	2	2	2	2	2
Folha pós floração	CMI	0,5	0,5	1	0,5	1	1
	CMB	1	1	2	1	2	2
<b>Extrato aquoso (mg/mL)</b>							
<i>C. erecta</i>							
Caule na floração	CMI	0,5	1	1	1	2	2
	CMB	1	2	2	2	4	4
Caule pós floração	CMI	1	1	1	1	1	1
	CMB	2	2	2	2	2	2
Folha na floração	CMI	1	1	1	1	1	1
	CMB	2	2	2	2	2	2
Folha pós floração	CMI	1	0,5	1	1	1	1
	CMB	2	1	2	2	2	2
Flor	CMI	1	1	1	1	1	2
	CMB	2	2	2	2	2	4
<i>C. benghalensis</i>							
Caule na floração	CMI	1	0,5	1	1	1	1
	CMB	2	1	2	2	2	2
Folha pós floração	CMI	1	1	1	0,5	1	1
	CMB	2	2	2	1	2	2
<b>Aditivos alimentares de Controlos</b>							
E211	MIC	4	0,5	1	1	1	2
	MBC	4	0,5	2	2	2	4
E224	MIC	1	2	0,5	0,5	1	0,5
	MBC	1	4	1	1	1	0,5

*B.c.*: *Bacillus cereus*; *S.a.*: *Staphylococcus aureus*; *L.m.*: *Listeria monocytogenes*; *E.c.*: *Escherichia coli*; *En.cl.*: *Enterobacter A*; *S.T.*: *Salmonella Typhimurium*; E211: Sulfito de sódio; E224: Metabissulfito de potássio; CMI: Concentração mínima inibitória; CMB: Concentração mínima bactericida.

**Tabela 17** - Atividade antifúngica do extrato hidroetanólico e aquoso de *C. erecta*. e *C. benghalensis*

Atividade antifúngica (mg/mL)		<i>A.f.</i>	<i>A.n.</i>	<i>A.o.</i>	<i>P.f.</i>	<i>P.v.c.</i>	<i>T.v.</i>
<b>Extrato hidroetanólico (mg/mL)</b>							
<i>C. erecta</i>							
Caule na floração	CMI	0,5	1	0,5	0,5	0,5	1
	CMF	1	2	1	1	1	2
Caule pós floração	CMI	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5
	CMF	1	2	1	1	1	1
Folha na floração	CMI	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	CMF	1	1	1	1	1	1
Folha pós floração	CMI	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5
	CMF	1	2	1	1	1	1
Flor	CMI	1	1	0,5	0,25	0,5	1
	CMF	2	2	1	0,5	1	2
<i>C. benghalensis</i>							
Caule na floração	CMI	0,5	1	0,5	0,5	0,25	0,5
	CMF	1	2	1	1	0,5	1
Folha pós floração	CMI	0,25	0,5	0,25	0,5	0,5	0,5
	CMF	0,5	1	0,5	1	1	1
<b>Extrato aquoso (mg/mL)</b>							
<i>C. erecta</i>							
Caule na floração	CMI	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1
	CMF	1	1	1	1	2	2
Caule pós floração	CMI	0,25	0,5	0,5	0,5	1	1
	CMF	0,5	0	0	1	2	2
Folha na floração	CMI	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	CMF	1	1	1	1	1	1
Folha pós floração	CMI	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1
	CMF	1	1	1	1	2	2
Flor	CMI	0,5	0,5	0,5	1	1	1
	CMF	1	1	1	2	2	2
<i>C. benghalensis</i>							
Caule na floração	CMI	0,5	0,5	0,5	0,5	1	0,5
	CMF	1	1	1	1	2	1
Folha pós floração	CMI	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	CMF	1	1	1	1	1	1
<b>Aditivos alimentares usados como controles</b>							
E211	CMI	1	1	1	1	2	1,0
	CMF	2	2	2	2	4	2,0
E224	CMI	1	1	1	0,5	1	0,5
	CMF	1	1	1	0,5	1	0,5

*A.f.*: *Aspergillus fumigatus*; *A.n.*: *Aspergillus niger*; *A.v.*: *Aspergillus ochraceus*; *P.f.*: *Penicillium funiculosum*; *P.v.c.*: *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*; *T.v.*: *Trichoderma viride.*; E211: Sulfito de sódio; E224: Metabissulfito de potássio; CMI: Concentração mínima inibitória; CMF: Concentração mínima fungicida.



## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

## 5.1. Considerações finais e perspectivas futuras

Atualmente, a temática da valorização de plantas silvestres tem despertado um interesse crescente, dado a capacidade de englobar diferentes segmentos, dando reconhecimento a cultura da qual a planta encontrasse previamente inserida, seja por meio do uso fitoterapêutico ou pelo consumo alimentar da PANC. Neste estudo, pretendeu-se consolidar os conhecimentos empíricos trazidos por diferentes culturas no que respeita a duas trapoerabas, *Commelina erecta* e *Commelina benghalensis*, através de um maior conhecimento técnico e científico destas espécies, nomeadamente pela avaliação de parâmetros nutricionais, químicos e bioativos, estes últimos através de ensaios *in vitro* de atividade antioxidante, antimicrobiana, citotóxica e anti-inflamatória

Na avaliação da composição nutricional das trapoerabas notou-se uma variação no teor de lípidos referente a *C. erecta* e o período de floração e pós floração. Já para *C. benghalensis* o principal destaque deu-se para a quantificação de compostos inorgânicos. Adicionalmente, os resultados das trapoerabas em termos de macronutrientes foi idêntico ou ainda superior quando comparados com os de diferentes PANC's. Para além da composição proximal, procedeu-se ainda à análise da composição química no que respeita os açúcares livres, ácidos orgânicos, perfil de ácidos gordos e tocoferóis. A frutose foi o monossacarídeo de maior abundância entre açúcares avaliados, verificando-se ainda a presença de glucose e sacarose em níveis residuais. Foram encontrados 4 tipos de ácidos orgânicos nas partes aéreas avaliadas, destacando-se a amostra de caule pós-floração pertencente a *C. erecta*, que apresentou quantidades significativamente maiores comparativamente às restantes amostras. Foram detetados 18 ácidos gordos, sendo os polinsaturados (PUFA) o grupo presente em maior quantidade e foram ainda identificadas 4 isoformas de tocoferóis, apresentando a maioria das amostras quantidades expressivas de  $\alpha$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol, destacando-se a amostra de folha pós floração de *C. benghalensis* com  $230 \pm 2 \mu\text{g}/100 \text{ g mf}$  e  $306 \pm 2 \mu\text{g}/100 \text{ g mf}$ , respetivamente.

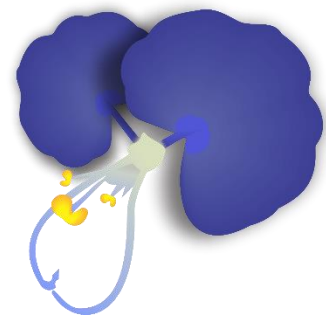
No que respeita a composição de compostos fenólicos, foram tentativamente identificado 13 compostos, na sua maioria C-glicosídeos de flavonas, destacando-se a presença de vários derivados da apigenina, composto com diversas propriedades bioativas relatadas.

Quanto ao potencial bioativo, todas partes edíveis apresentaram resultados de atividade antioxidante promissores. De referir que o presente estudo foi pioneiro na avaliação antioxidante das espécies *C. erecta* e *C. benghalensis* frente aos ensaios de

TBARS e OxHLIA. Quanto ao potencial citotóxico, verificou-se que vários dos extratos não apresentaram atividade para as concentrações testadas, à exceção dos extratos hidroetanoólico do caule na floração e a flor de *C. erecta* que apresentaram resultados satisfatórios frente aos tipos de células cancerígenas testadas, com ênfase para a linha celular MCF-7 (cancro de mama). No entanto, refira-se que estes extratos apresentaram também atividade citotóxica para células não tumorais, nomeadamente nefrotoxicidade em células de rim de macaco verde africano, pelo que são requeridos estudos adicionais que permitam concluir quais as moléculas que explicam os resultados obtidos. De salientar ainda os bons resultados de atividade anti-inflamatória apresentada pelos extratos destas duas partes aéreas, particularmente, da flor de *C. erecta*. De uma maneira geral, todos os extratos avaliados mostraram boa atividade antimicrobiana e antifúngica, sendo que para alguns casos foram obtidos melhores resultados de atividade inibitória e bactericida comparativamente aos dois controlos positivos testados, usados como aditivos alimentares.

Os resultados obtidos dão suporte técnico e científico ao uso das trapoerabas avaliadas quanto à sua aplicação na medicina tradicional bem como na alimentação, gerindo e conciliando os conhecimentos empíricos trazidos por diferentes culturas com a base científica. Assim, o presente estudo poderá futuramente contribuir para o desenvolvimento de novos produtos, sejam eles fármacos ou aditivos alimentares.

Relativamente a perspectivas futuras, dada a disponibilidade destas espécies em comunidades rurais de regiões do Sul do Brasil, pretende-se continuar os estudos quanto a aplicação das partes edíveis estudadas de modo a avaliar a sua aplicabilidade em pratos populares, por exemplo em omeletes, tendo em vista a melhoria do perfil nutricional. E não menos importante, avaliar a aceitabilidade do produto diante do consumidor por meio de análises sensoriais.



## **6. REFERÊNCIAS**

- Abel, S. D. A. & Baird, S. K. (2018). Honey is cytotoxic towards prostate cancer cells but interacts with the MTT reagent : Considerations for the choice of cell viability assay. *Food Chemistry*, 241, 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.083>
- Aguiar, J. P. L., Yuyama, L. K. O., Souza, F. das C. do A. & Pessoa, A. (2014). Biodisponibilidade do ferro do jambu (*Spilanthes oleracea* L.): estudo em murinos. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. <https://doi.org/10.5123/s2176-62232014000100002>
- Alaba, C. S. M. & Chichioco-Hernandez, C. L. (2014). 15-Lipoxygenase inhibition of *Commelina benghalensis*, *Tradescantia fluminensis*, *Tradescantia zebrina*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4, 184–188. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60229-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60229-X)
- Alam, M. K., Rana, Z. H., Islam, S. N. & Akhtaruzzaman, M. (2020). Comparative assessment of nutritional composition, polyphenol profile, antidiabetic and antioxidative properties of selected edible wild plant species of Bangladesh. *Food Chemistry*, 320, 126646. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126646>
- Albuquerque, U. P., Medeiros, P. M., Almeida, A. L. S., Monteiro, J. M., Neto, E. M. F. L., Melo, J. G. & Santos, J. P. (2007). Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 325–354. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.017>
- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Al-Mahasneh, M. A., Almajwal, A., Gammoh, S., Ereifej, K., Johargy, A. & Alli, I. (2017). A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. *Food Chemistry*, 218, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.057>
- Anand, P., Kunnumakara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Tharakan, S. T., Lai, O. S., Sung, B. & Aggarwal, B. B. (2008). *Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes*. 25. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9661-9>
- Angelo, P. M. & Jorge, N. (2006). Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. *Revista Do Instituto Adolfo Lutz*, 66, 1–9.

- Arruda, H. S., Neri-Numa, I. A., Kido, L. A., Júnior, M. R. M. & Pastore, G. M. (2020). Recent advances and possibilities for the use of plant phenolic compounds to manage ageing-related diseases. *Journal of Functional Foods*, 75, 104203. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104203>
- Arruda, H. S., Pereira, G. A., de Moraes, D. R., Eberlin, M. N. & Pastore, G. M. (2018). Determination of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolics composition in the edible part of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) and its by-products by HPLC-ESI-MS/MS. *Food Chemistry*, 245, 738–749. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.120>
- Arruda, H. S., Silva, E. K., Pereira, G. A., Angolini, C. F. F., Eberlin, M. N. ., Meireles, M. A. A. & Pastore, G. M. (2019). Effects of high-intensity ultrasound process parameters on the phenolic compounds recovery from araticum peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 50, 82–95. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.002>
- Bakowska-Barczak, A. M. & Kolodziejczyk, P. P. (2011). Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products*, 34, 1301–1309. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.002>
- Barreto, R. C. (2005). Commelinaceae. *Flora Fanerogâmica Do Estado de São Paulo*, 4, 195–210.
- Batool, R., Aziz, E., Iqbal, J., Salahuddin, H., Tan, B., Tabassum, S. & Mahmood, T. (2020). In vitro antioxidant and anti-cancer activities and phytochemical analysis of *Commelina benghalensis* L. root extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 10, 417–425. <https://doi.org/10.4103/2221-1691.290133>
- Benevides, C. M. de J., Souza, M. vasconcelos;, Souza, R. D. Barros & Lopes, M. vieira; (2011). Fatores antinutricionais em alimentos : revisão Antinutritional factors in foods : a review. *Segurança Alimentar e Nutricional*.
- Beyra, Á., León, M. del C., Iglesias, E., Ferrándiz, D., Herrera, R., Volpato, G., Godínez, D., Guimarães, M. & Álvarez, R. (2004). Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). *Anales Del Jardin Botánico de Madrid*, 61, 185–204. <https://doi.org/10.3989/ajbm.2004.v61.i2.44>
- Bezerra, J. A., Corrêa, R. F., Salomé, K., Santos, A. D. C., Lima, E. S., Campos, F. R.,

- Barison, A. & Pinheiro, M. L. B. (2019). Phytochemical Study and Antioxidant Evaluation of *Commelina erecta* (Commelinaceae) Stems. *Revista Virtual de Quimica*, 11, 255–263. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190018>
- Biesalski, H. K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., Walter, P. & Weber, P. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition*, 25, 1202–1205. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>
- Bochkov, D. V., Sysolyatin, S. V., Kalashnikov, A. I., & Surmacheva, I. A. (2012). Shikimic acid: Review of its analytical, isolation, and purification techniques from plant and microbial sources. *Journal of Chemical Biology*, 5, 5–17. <https://doi.org/10.1007/s12154-011-0064-8>
- Brandão, M. G. L., Pignal, M., Romaniuc, S., Grael, C. F. F. & Fagg, C. W. (2012). Useful Brazilian plants listed in the field books of the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire (1779-1853). *Journal of Ethnopharmacology*, 143, 488–500. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.06.052>
- Bredariol, L. R. (2015). Levantamento e caracterização das Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC'S) espontâneas presentes em um sistema agroflorestral no município de Rio Claro-SP. *Trabalho de Conclusão de Curso Apresentado Ao Instituto de Biociências Da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, Para Obtenção Do Grau de Ecólogo.*
- Cao, J., Yin, C., Qin, Y., Cheng, Z. & Chen, D. . (2014). Approach to the study of flavone di-C-glycosides by high performance liquid chromatography-tandem ion trap mass spectrometry and its application to characterization of flavonoid composition in *Viola yedoensis*. *Journal of Mass Spectrometry*, 49(10), 1010–1024.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). A review on antioxidants , prooxidants and related controversy : Natural and synthetic compounds , screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>
- Ceccanti, C., Landi, M., Incrocci, L., Pardossi, A., Venturi, F., Taglieri, I., Ferroni, G. & Guidi, L. (2020). Comparison of three domestications and wild-harvested plants for nutraceutical properties and sensory profiles in five wild edible herbs: Is domestication possible? *Foods*, 9, 1–20. <https://doi.org/10.3390/foods9081065>

- Cuéllar Cuéllar, A. & Okori, O. D. (2010). Preliminary Phytochemical and Antimicrobial Evaluation of the Fresh and Dried Whole Plant Extracts from *Commelina benghalensis*. *Revista Colombiana de Ciência Animal*, 2, 104–116.
- Degáspari, C. H. & Waszczynskyj, N. . (2004). Propriedades Antioxidantes De Compostos Fenólicos. *Visão Acadêmica*, 5. <https://doi.org/10.5380/acd.v5i1.540>
- Derrick, M., Wright, J. & Newman, R. (2017). Plant Dye Identification in Japanese Woodblock Prints. *Arnoldia*, 1–17.
- Devia, G., Forli, S., Vidal, L., Rosa Curutchet, M. & Ares, G. (2020). References to home-made and natural foods on the labels of ultra-processed products increase healthfulness perception and purchase intention: Insights for policy making. *Food Quality and Preference*, 88, 104110. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.104110>
- Dornas, W. C., Oliveira, T. T., Rodrigues-das-Dores, R. G., Santos, A. F. & Nagem, T. J. (2008). Flavonóides : potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica*, 28, 241–249. <https://doi.org/18084532>
- Duarte, J. M. & Areco, K. C. N. (2014). *Tabela de Composição Química dos Alimentos*. <http://tabnut.dis.epm.br/Credito>
- Ehlers, B. K., Berg, M. P., Staudt, M., Holmstrup, M., Glasius, M., Ellers, J., Tomiolo, S., Madsen, R. B., Slotsbo, S. & Penuelas, J. (2020). Plant Secondary Compounds in Soil and Their Role in Belowground Species Interactions. *Trends in Ecology and Evolution*, 35, 716–730. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.04.001>
- Estevam, E. B. B., Silva, E. M., Miranda, M. L. D., Alves, J. M., Pereira, P. S., Silva, F. G., Esperandim, V. R., Martins, C. H. G., Ambrosio, M. A. L. V., Tófoli, D., Junior, L. R. A. & Alves, C. C. F. (2016). Avaliação das atividades antibacteriana, tripanocida e citotóxica do extrato hidroalcolico das raízes de *Tradescantia sillamontana* Matuda (Veludo Branco) (Commelinaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18, 415–422. [https://doi.org/10.1590/1983-084X/15\\_215](https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_215)
- Faden, R. B. (1998). Commelinaceae. *In The Families and Genera of Vascular Plants*, 4, 109–110.
- Faden, R. B. (2000). Biologia floral de Commelinaceae. *Monocots: Systematics and*

- Evolution: Systematics and Evolution*, 309–317.
- Ferreres, F., M., G. N. G., Valentão, P., Pereira, D. M., Gil-Izquierdo, A., Araújo, L. & Andrade, P. B. (2018). Leaves and stem bark from *Allophylus africanus* P. Beauv.: An approach to anti-inflammatory properties and characterization of their flavonoid profile. *Food and Chemical Toxicology*, 118, 430–438.
- Ferreres, F., Silva, B. M., Andrade, P. B., Seabra, R. M. & Ferreira, M. A. (2003). Approach to the study of C-glycosyl flavones by ion trap HPLC-PAD-ESI/MS/MS: Application to seeds of quince (*Cydonia oblonga*). *Phytochemical Analysis*, 14(6), 352–359.
- Fibrich, B. & Lall, N. (2020). Chapter 11 - *Commelina benghalensis*. In *Underexplored Medicinal Plants from Sub-Saharan Africa* (pp. 77–85).
- Figueirinha, A., Paranhos, A., Pérez-Alonso, J. J., Santos-Buelga, C & Batista, M. T. (2008). *Cymbopogon citratus* leaves: Characterization of flavonoids by HPLC-PDA-ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. *Food Chemistry*, 110(3), 718–728.
- Figueroa-Robles, A., Antunes-Ricardo, M. & Guajardo-Flores, D. (2020). Encapsulation of phenolic compounds with liposomal improvement in the cosmetic industry. *International Journal of Pharmaceutics*, 593, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120125>
- Fotakis, C., Tsigrimani, D., Tsiaka, T., Lantzouraki, D. Z., Strati, I. F., Makris, C., Tagkouli, D., Proestos, C., Sinanoglou, V. J. & Zoumpoulakis, P. (2016). Metabolic and antioxidant profiles of herbal infusions and decoctions. *Food Chemistry*, 211, 963–971. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.124>
- Frankova, A., Vistejnova, L., Merinas-Amo, T., Leheckova, Z., Doskocil, I., Wong Soon, J., Kudera, T., Laupua, F., Alonso-Moraga, A. & Kokoska, L. (2021). In vitro antibacterial activity of extracts from Samoan medicinal plants and their effect on proliferation and migration of human fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, 264. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113220>
- Gadisa, E., Weldearegay, G., Desta, K., Tsegaye, G., Hailu, S., Jote, K. & Takele, A. (2019). Combined Antibacterial Effect of Essential Oils from Three Most

- Commonly used Ethiopian Traditional Medicinal Plants on Selected Multidrug Resistant Bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/12906-019-2429-4>
- Garambone, E. & Rosa, G. (2007). Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 18, 229–235. <https://doi.org/0103-4235>
- Gazziero, D. L. P., Lollato, R. P., Brighenti, A. M., Pitelli, R. A. & Voll, E. (2015). Manual de identificação de plantas daninhas da cultura da soja. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*.
- Geraci, A., Amato, F., Di Noto, G., Bazan, G. & Schicchi, R. (2018). The wild taxa utilized as vegetables in Sicily (Italy): A traditional component of the Mediterranean diet. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 14, 1–27. <https://doi.org/10.1186/s13002-018-0215-x>
- Ginsburg, I., Koren, E., Horani, A., Mahamid, M., Doron, S., Muhanna, N., Amer, J. & Safadi, R. (2009). Amelioration of hepatic fibrosis via Padma Hepaten is associated with altered natural killer T lymphocytes. *Clinical and Experimental Immunology*, 157, 155–164. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.03936.x>
- Gong, X., Li, X., Xia, Y., Xu, J., Li, Q., Zhang, C. & Li, M. (2020). Effects of phytochemicals from plant-based functional foods on hyperlipidemia and their underpinning mechanisms. *Trends in Food Science and Technology*, 103, 304–320. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.026>
- Gothandam, K. M., Aishwarya, R. & Karthikeyan, S. (2010). Preliminary screening of antimicrobial properties of few medicinal plants. *Journal of Phytology*, 2, 1–6. <https://doi.org/2075-6240>
- Graham, J. G., Quinn, M. L., Fabricant, D. S. & Farnsworth, N. R. (2000). Plants used against cancer - An extension of the work of Jonathan Hartwell. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 347–377. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00341-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00341-X)
- Hang, N. T., Uyen, T. T. & Phuong, N. V. (2021). Green extraction of apigenin and luteolin from celery seed using deep eutectic solvent. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 207, 5–6.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114406>
- Hasan, S. M. R., Hossain, M. M., Akter, R., Jamila, M., H., M. M. E. & Rahman, S. (2009). DPPH Free radical scavenging activity of some bangladeshi medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3, 875–879.
- Hernández, T., García-Bores, A. M., Serrano, R., Ávila, G., Dávila, P., Cervantes, H., Peñalosa, I., Flores-Ortiz, C. M. & Lira, R. (2015). Fitoquímica Y Actividades Biológicas De Plantas De Importancia En La Medicina Tradicional Del Valle De Tehuacán-Cuicatlán. *Tip*, 18, 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2015.09.003>
- Huergo, E. M., Galeano, Y. P. G. & Lima, L. C. P. (2020). Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) do município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. *Jardim Botânico de Brasília Plantas*, 14, 107–132. <https://doi.org/1983-6996>
- Jacob, M. C. M., Araujo, D. F. de S. & Madeira, Rolim, P. M. (2018). Aplicação de instrumento para avaliação do desempenho ambiental em um restaurante universitário: um estudo de caso. *Elucidare*.
- Ji, C., Yin, X., Duan, H. & Liang, L. (2020). Molecular complexes of calf thymus DNA with various bioactive compounds: Formation and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.135>
- Khan, W. M., Shah, S. Z., Khan, M. S. & Akhtar, N. (2020). Evaluation of indigenous knowledge of medicinal plants from Tall Dardyal Hills, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Journal of Herbal Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100314>
- Lakshminarayana, R., Raju, M., Krishnakantha, T. P. & Baskaran, V. (2007). Lutein and zeaxanthin in leafy greens and their bioavailability: Olive oil influences the absorption of dietary lutein and its accumulation in adult rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6395–6400. <https://doi.org/10.1021/jf070482z>
- Lanyasunya, T. P., Wang, H., Kariuki, S. T., Mukisira, E. A., Abdulrazak, S. A., Kibitok, N. K. & Ondiek, J. O. (2008). The potential of *Commelina benghalensis* as a forage for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 144, 185–195.

- <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.10.009>
- Lewis, W. H. (1985). The Useful Plants of West Tropical Africa., *Economic Botany*, 1, 329–334. <https://doi.org/10.1080/01490458509385939>
- Li, L., Tsao, R., Yang, R., Kramer, J. K. G. & Hernandez, M. (2007). Fatty acid profiles, tocopherol contents, and antioxidant activities of heartnut (*Juglans ailanthifolia* Var. *cordiformis*) and Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1164–1169. <https://doi.org/10.1021/jf062322d>
- Llacuna, L., & Mach, N. (2012). Papel de los antioxidantes en la prevención del cáncer. *Revista Espanola de Nutricion Humana y Dietetica*, 16, 16–24. [https://doi.org/10.1016/S2173-1292\(12\)70067-4](https://doi.org/10.1016/S2173-1292(12)70067-4)
- Łuczaj, Ł., Pieroni, A., Tardío, J., Pardo-De-Santayana, M., Sõukand, R., Svanberg, I. & Kalle, R. (2012). Wild food plant use in 21st century Europe: The disappearance of old traditions and the search for new cuisines involving wild edibles. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81, 359–370. <https://doi.org/10.5586/asbp.2012.031>
- Maia, D. C. da. (2006). Estudo taxonômico dos gêneros *Commelina* L. e *Dichorisandra* J.C. Mikan (Commelinaceae), no Estado do Paraná, Brasil. *Dissertação Apresentada Como Requisito Parcial à Obtenção Do Grau de Mestre, Pelo Curso de Pós-Graduação Em Botânica Do Setor de Ciências Biológicas Da Universidade Federal Do Paraná*.
- Malami, I., Jagaba, N. M., Abubakar, I. B., Muhammad, A., Alhassan, A. M., Waziri, P. M., Yakubu Yahaya, I. Z., Mshelia, H. E. & Mathias, S. N. (2020). Integration of medicinal plants into the traditional system of medicine for the treatment of cancer in Sokoto State, Nigeria. *Heliyon*. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04830>
- Manandhar, N. P. (1998). Native phytotherapy among the Raute tribes of Dadeldhura district, Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*, 60, 199–206. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00150-5](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00150-5)
- Martin, C. A., De Almeida, V. V., Ruiz, M. R., Visentainer, J. E. L., Matshushita, M., De Souza, N. E. & Visentainer, J. V. (2006). Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: Importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutricao*. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000600011>

- Martinez, M. A. D. P. (1985). Flavonoid Relationships Between the Commelinaceae and Related Families. *Biochemical Systematics and Ecology*, 13, 253–256. <https://doi.org/030519788>
- Martínez, M. A. D. P. & Swain, T. (1985). Flavonoids and chemotaxonomy of the Commelinaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 13, 391–402. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(85\)90083-3](https://doi.org/10.1016/0305-1978(85)90083-3)
- Martirosyan, D. M. & Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: What makes a new definition unique? *Functional Foods in Health and Disease*, 5, 209–223. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v5i6.183>
- Mbemba, G. T., Vieira, L. A., Canafistula, F. G., Pessoa, O. D. L. & Rodrigues, A. P. R. (2017). Relatos sobre a contribuição in vivo e in vitro de plantas medicinais na melhora da função reprodutiva feminina. *Reproducao e Climaterio*, 32, 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.recli.2016.11.002>
- Mignet, N., Seguin, J. & Chabot, G. G. (2013). Bioavailability of polyphenol liposomes: A challenge ahead. *Pharmaceutics*, 5, 457–471. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics5030457>
- Misra, A., Srivastava, A., Srivastava, S. & Rawat, A. K. S. (2016). Simultaneous reverse-phase HPLC determination of major antioxidant phenolics in *Commelina benghalensis* L. tubers. *Acta Chromatographica*, 28, 541–554. <https://doi.org/10.1556/1326.2016.28.3.08>
- Moreira, R. A., Cruz, Monteiro, M. do C., Fagundes, Pereira, M. C., Pantoja, Araújo, L. dos Santos & Soares, A. (2014). Carboidratos foliares durante a floração e os estádios iniciais de crescimento de frutinhos em tangerineira “Ponkan.” *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 49. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014000100005>
- Mummed, B., Abraha, A., Feyera, T., Nigusse, A. & Assefa, S. (2018). In Vitro Antibacterial Activity of Selected Medicinal Plants in the Traditional Treatment of Skin and Wound Infections in Eastern Ethiopia. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2018/1862401>
- Murkovic, M. (2015). Phenolic Compounds: Occurrence, Classes, and Analysis. In *Encyclopedia of Food and Health* (1st ed.). Elsevier Ltd.

- <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00539-0>
- Nascimento, O., Maldonado, J. & Arnóbio, A. (2015). Estudo do Desempenho Comercial dos Insumos Farmacêuticos Vegetais sob a Ótica do Comércio Exterior. *Revista Fitos*. <https://doi.org/10.5935/2446-4775.20150019>
- Ng, J. Y., Garber, A., Luong, M., Cooley, K. & Busse, J. W. (2020). No improvement in disclosure of natural health product use to primary care medical doctors in the last 15 years: A survey of naturopathic patients. *Complementary Therapies in Clinical Practice*. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2020.101106>
- Niu, Y., Li, H., Dong, J., Wang, H., Hashi, Y. & Chen, S. (2012). Identification of isoflavonoids in Radix Puerariae for quality control using on-line high performance liquid chromatography-diode array detector-electrospray ionization-mass spectrometry coupled with post-column derivatization. *Food Research International*, 48(2), 528–537.
- Njamen, D., Mvondo, M. A., Djiogue, S., Ketcha Wanda, G. J. M., Magne Nde, C. B. & Vollmer, G. (2013). Phytotherapy and womens reproductive health: The cameronian perspective. *Planta Medica*, 79, 600–611. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1328326>
- Obermeyer, A. A. & Faden, R. 1985). Commelinaceae. In O.A. Leistner (ed.) Flora of Southern Africa. *Flora of North America Editorial Committee*, 7, 23.
- Oliveira, A., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Valentão, P., Seabra, R. M. & Silva, B. M. (2008). Organic acids composition of Cydonia oblonga Miller leaf. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.004>
- Oliveira, R. B., Bonadio Precipito, L. M., Gandolfo, M. A., Oliveira, J. V. & Lucio, F. R. (2019). Effect of droplet size and leaf surface on retention of 2,4-D formulations. *Crop Protection*, 119, 97–101. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.01.015>
- Orni, P. R., Shetu, H. J., Khan, T., Rashed, S. S. B. & Dash, P. R. (2018). A Comprehensive Review on Commelina Benghalensis L. ( Commelinaceae ). *International Journal of Pharmacognosy*, 5, 637–645. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.5\(10\).637-45](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.5(10).637-45)
- Otsuka, F. A. M., Santos, R. B., Chaves, L. F., Santos, R. S., Chaves Filho, A. B.,

- Miyamoto, S. & Matos, H. R. (2020). Identification of caffeic acid and rutin by UHPLC MS/MS and antioxidant activity of *Commelina erecta* lineu. In cell culture. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 92, 1–10. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020190491>
- Panigo, E., Ramos, J., Lucero, L., Perreta, M. & Vegetti, A. (2011). The inflorescence in Commelinaceae. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 206, 294–299. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2010.07.003>
- Panigo, E. S., Dellaferrera, I. M., Acosta, J. M., Bender, A. G., Garetto, J. I. & Perreta, M. G. (2012). Glyphosate-induced structural variations in *Commelina erecta* L. (Comelinaceae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.10.002>
- Parekh, J. & Chanda, S. V. (2007). Antibacterial activity of aqueous and alcoholic extracts of 34 Indian medicinal plants against some *Staphylococcus* species. *Turkish Journal of Biology*, 32, 63–71.
- Paz, E. A., Cerdeiras, M. P., Fernandez, J., C, F. F., Moyna, P., Soubes, M., Vfizquez, A., Vero, S. & L. Zunino. (1996). Screening of Uruguayan medicinal plants for antimicrobial activity. Part II. *Journal of Ethnopharmacology*, 53, 111–115. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(96\)01428-6](https://doi.org/10.1016/0378-8741(96)01428-6)
- Pellegrini, M. O. de O. & Forzza, R. C. (2017). Synopsis of commelina L. (Comelinaceae) in the state of Rio de Janeiro, reveals a new white-flowered species endemic to Brazil. *PhytoKeys*, 78, 59–81. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.78.11932>
- Prasain, J. K., Reppert, A., Jones, K., Moore, D. R., Barnes, S. & Lila, M. A. (2007). Identification of isoflavone glycosides in *Pueraria lobata* cultures by tandem mass spectrometry. *Phytochemical Analysis*, 18(1), 50–59.
- Qiu, X., Zhang, Y., Zhou, Y., Li, G. & Feng, X. (2021). Progress in pretreatment and analysis of organic Acids: An update since 2010. *Food Chemistry*, 360. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129977>
- Rajput, M. & Kumar, N. (2020). Medicinal plants: A potential source of novel bioactive compounds showing antimicrobial efficacy against pathogens infecting hair and

- scalp. *Gene Reports*, 21. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100879>
- Redzic, S., Barudanovic, S. & Pilipovic, S. (2010). Wild Mushrooms and Lichens used as Human Food for Survival in War Conditions; Podrinje - Zepa Region (Bosnia and Herzegovina, W. Balkan). *Human Ecology Review*, 17, 175–181.
- Rezende, F. M. R., Rosado, D., Moreira, F. A. & Carvalho, W. R. S. (2016) Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. *Universidade de São Paulo Instituto de Biociências*, 93–104.
- Ricardo, L. M., De Paula-Souza, J., Andrade, A. & Brandão, M. G. L. (2017). Plants from the Brazilian traditional medicine: Species from the books of the polish physician piotr czerniewicz (pedro luiz napoleão chernoviz, 1812–1881). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27, 388–400. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.01.002>
- Rodrigues, H. G., Diniz, Y. S. A., Faine, L. A., Almeida, J. A., Fernandes, A. A. H. & Novelli, E. L. B. (2003). Nutritional supplementation with natural antioxidants: Effect of rutin on HDL-cholesterol concentration. *Revista de Nutricao*, 16, 315–320. <https://doi.org/10.1590/s1415-52732003000300009>
- Rosales-Reyes, T., de la Garza, M., Arias-Castro, C., Rodríguez-Mendiola, M., Fattel-Fazenda, S., Arce-Popoca, E., Hernández-García, S. & Villa-Treviño, S. (2007). Aqueous crude extract of *Rhoeo discolor*, a Mexican medicinal plant, decreases the formation of liver preneoplastic foci in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.022>
- Santos, A. A. dos (2013). *Avaliação da bioatividade e caracterização química de uma espécie medicinal de uso tópico: Juglans regia L.*
- Sarmiento, A., Barros, L., Fernandes, Â., Carvalho, A. M. & Ferreira, I. C. F. R. (2014). *Valorization of traditional foods : nutritional and bioactive properties of Cicer arietinum L . and Lathyrus sativus L . pulses.* <https://doi.org/10.1002/jsfa.6702>
- Sedano-Partida, M. D., Santos, K. P. dos, Sala-Carvalho, W. R., Silva-Luz, C. L. & Furlan, C. M. (2020). Anti-HIV-1 and antibacterial potential of *Hyptis radicans* (Pohl) Harley & J.F.B. Pastore and *Hyptis multibracteata* Benth. (Lamiaceae). *Journal of Herbal Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100328>
- Seixas, S., Manguiera, S., Gonçalves, C. M., Pereira, D. P. & Mendes, J. E. (2020).

- Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs) com potencial alimentício no Campus do CENTEC Abaitará. *XI Congresso Brasileiro de Agroecologia*.
- Sfogleia, N., Biondo, E., Zanetti, C., Cherobini, L., Kolchinski, E. M. & Sant'Anna, V. (2019). Caracterização da agrobiodiversidade no Vale do Taquari, RS: levantamento florístico, consumo e agroindustrialização de hortaliças não convencionais. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*. <https://doi.org/10.35977/0104-1096.cct2019.v36.26489>
- Shabab, S., Gholamnezhad, Z. & Mahmoudabady, M. (2021). Protective effects of medicinal plant against diabetes induced cardiac disorder: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113328>
- Shah, D., Sajjad, N., Ali, R., Nazir, N., Hassan, S. & Shah, S. (2019). Sugar regulates plant growth and development under in vitro conditions. In *Plant Signaling Molecules: Role and Regulation under Stressful Environments*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816451-8.00015-0>
- Siew, Y. Y., Yew, H. C., Neo, S. Y., Seow, S. V., Lew, S. M., Lim, S. W., Lim, C. S. E. S., Ng, Y. C., Seetoh, W. G., Ali, A., Tan, C. H. & Koh, H. L. (2019). Evaluation of anti-proliferative activity of medicinal plants used in Asian Traditional Medicine to treat cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 235, 75–87. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.12.040>
- Silva, A. M. A. P., Silva, A. M., Masson, R., Mota, R. D., Costa, N. C., Ribeiro, E. E., Loureiro, W. A. S. & Figueiredo, P. M. S. (2015). Avaliação da atividade antimicrobiana da planta *Tradescantia pallida* Munt (Taboquinha Roxa). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17, 374–378. [https://doi.org/10.1590/1983-084X/12\\_188](https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_188)
- Šimunková, M., Valko, M., Bučinský, L. & Malček, M. (2020). Structure functionality relationship of flavonoids (myricetin, morin, taxifolin and 3',4'-dihydroxyflavone). A computational study via the cupric ion probe. *Journal of Molecular Structure*. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128923>
- Singh, P., Gupta, E., Mishra, N. & Mishra, P. (2019). Shikimic acid as intermediary model for the production of drugs effective against influenza virus. In *Phytochemicals as Lead Compounds for New Drug Discovery*. Elsevier Inc.

---

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817890-4.00016-0>

- Soethe, C., Steffens, C. A., Do Amarante, C. V. T., De Martin, M. S. & Bortolini, A. J. (2016). Qualidade, compostos fenólicos e atividade antioxidante de amoras-pretas “Tupy” e “Guarani” armazenadas a diferentes temperaturas. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, *51*, 950–957. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000800007>
- Soković, M. & Van Griensven, L. J. L. D. (2006). Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *European Journal of Plant Pathology*, *116*(3), 211–224. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9053-0>
- Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P. D., Brkić, D. & Van Griensven, L. J. L. D. (2010). Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, *15*(11), 7532–7546. <https://doi.org/10.3390/molecules15117532>
- Sousa, F. F., Almeida, L. dos S., de Andrade, L. O. & de Queiroz, M. F. (2011). Identification of spontaneous plant with therapeutic properties in the area cultivated with *Jatropha* sp. *Revista Verde*, *6*, 258–262.
- Soutinho, S. M. A. (2012). Avaliação dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante de frutos vermelhos produzidos em modo biológico. *Dissertação Mestrado Em Qualidade e Tecnologia Alimentar*.
- Stefanelli, A. A. & Souza, P. S. (2016). *Composição centesimal da ora-pro-nobis*.
- Tene, V., Malagón, O., Finzi, P. V., Vidari, G., Armijos, C. & Zaragoza, T. (2007). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchi, Ecuador. *Journal of Ethnopharmacology*, *111*, 63–81. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.032>
- Teng, Z. & Ye, S. . (2015). Research progress of genetic engineering on medicinal plants. *China Journal of Chinese Materia Medica*, *40*, 594–601.
- Timms, K. P., & Wood, L. J. (2020). Sub-lethal glyphosate disrupts photosynthetic efficiency and leaf morphology in fruit-producing plants, red raspberry (*Rubus idaeus*) and highbush cranberry (*Viburnum edule*). *Global Ecology and Conservation*, *24*. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01319>

- Tiwari, S. K., Lahkar, M., Dash, S., Samudrala, P. K., Thomas, J. M. & Augustine, B. B. (2013). Preliminary phytochemical, toxicity and anti-inflammatory evaluation of *Commelina benghalensis*. *International Journal of Green Pharmacy*, 7, 201–205. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.120211>
- Vishwakarma, K. L. & Dubey, V. (2011). Nutritional analysis of indigenous wild edible herbs used in eastern Chhattisgarh, India. *Emirates Journal of Food and Agriculture*.
- Vizzotto, M., Krolow, A. C. & Weber, G. E. B. (2010). Metabólitos Secundários Encontrados em Plantas e sua Importância. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*. <https://doi.org/10.5216/pat.v41i2.12571>
- Wang, W., Xu, J., Fang, H., Li, Z. & Li, M. (2020). Advances and challenges in medicinal plant breeding. *Plant Science*, 298. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110573>
- Webster, T. M., Burton, M. G., Culpepper, A. S., York, A. C. & Prostko, E. P. (2005). Tropical Spiderwort ( *Commelina benghalensis* ): A Tropical Invader Threatens Agroecosystems of the Southern United States. *Weed Technology*, 19, 501–508. <https://doi.org/10.1614/wt-04-234r.1>
- Woolley, J. G. (2001). Plant Alkaloids. *Plant Alkaloids*. <https://doi.org/10.1201/9780203743218>
- Xu, C. C., Wang, B., Pu, Y. Q., Tao, J. S. & Zhang, T. (2017). Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 15, 721–731. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(17\)30103-6](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(17)30103-6)
- Yemele, M. D., Telefo, P. B., Lienou, L. L., Tagne, S. R., Fodouop, C. S. P., Goka, C. S., Lemfack, M. C. & Moundipa, F. P. (2015). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for pregnant womens health conditions in Menoua division-West Cameroon. *Journal of Ethnopharmacology*, 160, 14–31. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.017>