



***Opuntia ficus-indica* (L.) Miller: valorização dos cladódios para consumo alimentar**

Liliana Patrícia Ferreira Espírito Santo

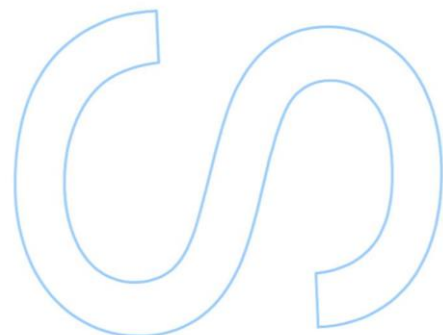
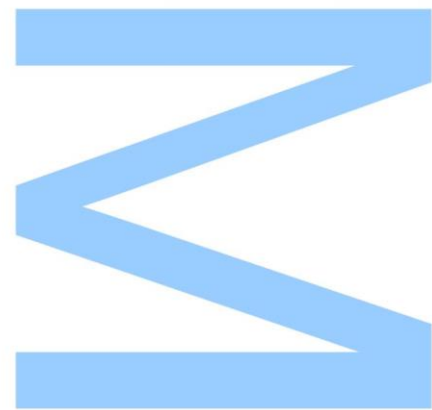
Mestrado em Ciências do Consumo e Nutrição
Departamento de Geociências, Ambiente e Ordenamento do Território
2020

Orientadora

Doutora M. Beatriz P. P. Oliveira, Prof. Catedrática, Faculdade de Farmácia da UP

Coorientadora

Doutora Ada Rocha, Prof. Associada com agregação, Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da UP

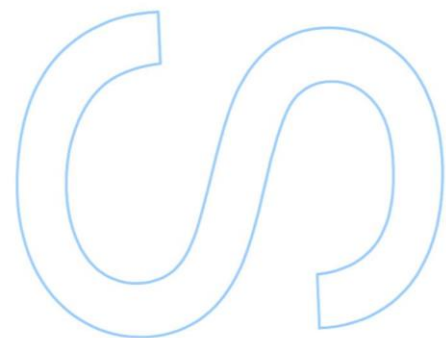
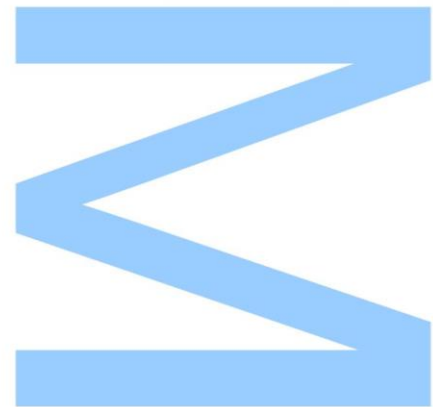




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Índice

1. Introdução	15
1.1 Enquadramento teórico	15
1.2 <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller	17
1.2.1 Classificação e origem	17
1.2.2 A <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller como recurso natural	21
1.3 Caracterização química dos cladódios	22
Compostos fenólicos	24
1.4 Possíveis benefícios dos cladódios para a saúde	25
2. Objetivos	27
2.1. Objetivo geral	27
2.2. Objetivo específico	27
3. Metodologias	27
3.1. Amostras	28
3.2. Preparação das amostras	29
3.3. Reagentes e padrões	29
3.4. Equipamentos	30
3.5. Determinação de parâmetros para a caracterização nutricional	32
3.6. Determinação de compostos bioativos e atividade antioxidante	38
Compostos fenólicos totais	39
Flavonoides totais	39
4. Análise Estatística	40
5. Resultados e Discussão	41
5.1. Parâmetros biométricos	41
5.2. Análise nutricional	41
5.3. Composição em aminoácidos	46
Aminoácidos totais	46
Aminoácidos livres	48
5.4. Perfil de ácidos gordos	49
5.5. Perfil de Vitamina E	51
5.6. Compostos bioativos e atividade antioxidante	52
6. Conclusões	57
7. Desenvolvimento de produto	58

8. Perspetivas de trabalho futuro.....	59
9. Referências.....	60

Índice de tabelas

Tabela 1 - Propriedades benéficas associadas aos cladódios da Opuntia ficus-indica	26
Tabela 2 - Dados biométricos das diferentes variedades de cladódios.....	41
Tabela 3 - Composição nutricional (humidade, cinzas, proteína e gordura) de quatro variedades de cladódios da Opuntia ficus-indica (L.) Miller	42
Tabela 4- Composição nutricional (Fibra total, açúcares livres e restantes hidratos de carbono) de quatro variedades de cladódios da Opuntia ficus-indica (L.) Miller	43
Tabela 5 - Teor de aminoácidos totais dos cladódios.....	46
Tabela 6 - Teor de aminoácidos livres dos cladódios.	48
Tabela 7 - Perfil em ácidos gordos das diferentes variedades de cladódios.	50
Tabela 8 -- Perfil em vitamina E das quatro variedades de cladódios.	52
Tabela 9 - Atividade antioxidante e compostos bioativos das quatro variedades de cladódios.	55

Índice de figuras

Figura 1 - ONU (2015) Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, Agenda 2030.....	16
Figura 2 – Cladódios e frutos da Opuntia ficus-indica, pomar de Olaia, Torres Novas, Portugal	17
Figura 3 – Cladódios com flores da Opuntia ficus-indica, pomar de Olaia, Torres Novas, Portugal	18
Figura 4 – Distribuição da Opuntia ficus-indica (L.) Miller	20
Figura 5 – Opuntia ficus-indica, pomar de Torres Novas	28
Figura 6 - Extratos aquosos, hidroalcoólicos (1:1) e etanólicos da variedade laranja utilizados para a optimização da extração.....	39
Figura 7 - Otimização das condições de extração para determinação dos Fenóis totais no extrato 100% água.....	53
Figura 8 - Otimização das condições de extração para determinação dos Fenóis totais no extrato água-etanol (1:1).....	53
Figura 9 - Otimização das condições de extração para determinação dos Fenóis totais no extrato 100% etanol.....	53
Figura 10 - Topping de figo-da-índia (variedade vermelha)	58

Lista de abreviaturas

AAE – aminoácidos essenciais

AANE – aminoácidos não essenciais

AAT – aminoácidos totais

AG - ácidos gordos

AGM - ácidos gordos monoinsaturados

AGP - ácidos gordos polinsaturados

AGS - ácidos gordos saturados

BA – Cladódios da variedade branca do Arrepiado

BB - Cladódios da variedade branca de Olaia

DPPH^{*} - radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo

EAG - equivalentes de ácido gálgico

ESF - equivalentes de sulfato ferroso

ET - equivalentes de trolox;

FAME - *fatty acids methyl esters* (ésteres metílicos dos ácidos gordos)

FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (Organização de Alimentação e Agricultura das Nações Unidas)

FMOC – 9-fluorenilmetoxicarbonilo

FRAP - poder antioxidante redutor férrico

FT – fibra alimentar total

GC-FID - *Gas Chromatography with Flame Ionization Detector* (cromatografia gasosa com detecção de ionização de chama)

HPLC-FID - *High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detector* (cromatografia líquida de alta eficiência com detetor de fluorescência)

HPLC-ELSD – *High Performance Liquid Chromatography with Evaporative Light scattering detector* (cromatografia líquida de alta eficiência com detetor evaporativo de espalhamento de luz)

HSD - *Honestly Significant Difference* (diferenças significativas)

L - Cladódios da variedade Laranja de Olaia

OFI - *Opuntia ficus-indica* L. Miller

OPA – *o-phthalaldehyde/3-mercaptopropionic acid* (o-ftalaldeído/ ácido 3-mercaptopropiónico)

p.s. – peso seco

PI - padrão interno

PTPE – Politetrafluoretileno

RP-HPLC - *Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa)

TPTZ - 2,4,6-Tri (2-piridil)-s-triazina;

V - Cladódios da variedade vermelha de Olaia

Agradecimentos

A realização e conclusão desta dissertação exigiu muito trabalho e dedicação e só foi possível porque várias pessoas se disponibilizaram e me acompanharam neste projeto.

Começo por um profundo agradecimento à Professora Doutora Beatriz Oliveira, por me ter dado a oportunidade de trabalhar no seu grupo de investigação no Departamento de Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, pela partilha de conhecimento, mas também por me ter disponibilizado todos os recursos para a conclusão deste trabalho com sucesso e acima de tudo por toda a sua dedicação, empenho na orientação deste trabalho.

Gostaria de estender um agradecimento especial à minha coorientadora, Professora Doutora Ada Rocha, que se mostrou disponível desde início para me acompanhar neste trabalho, assim como agradeço as suas palavras de incentivo.

Gostaria também de deixar um agradecimento especial a toda a equipa do grupo de investigação, Anabela Costa, Diana Melo, Filipa Pimentel, Joana Correia, Maria Antónia Nunes, Susana Machado, Rita Alves e Juliana Peixoto, por toda a disponibilidade, incentivo e apoio.

Também não posso deixar de agradecer ao Sr. Paulo Costa e Cármen Azevedo, da empresa Olaia Natura pelo fornecimento das amostras, mas também por toda a disponibilidade que demonstraram ao longo deste trabalho.

Devo também um profundo agradecimento à minha família, nomeadamente os meus pais por toda ajuda e apoio, mas também um agradecimento muito especial ao meu marido, Paulo Fraga e à minha filha, Eva Fraga, por toda a compreensão, paciência e sobretudo por todo o amor, pois foi o que tornou possível a realização e conclusão deste trabalho.

Agradeço, também, que este trabalho tenha sido apoiado pela UID / QUI / 50006/2019 com financiamento da FCT / MCTES através de fundos nacionais.

Resumo

A *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, habitualmente conhecida por “figueira-da-Índia” é uma planta originária do México, que chegou à Europa na época dos descobrimentos e se expandiu para regiões com condições edafoclimáticas favoráveis. Em Portugal, cresceu em estado espontâneo principalmente nas regiões do Algarve e Alentejo. O seu cultivo intensivo e ordenado ganhou maior expressão a partir de 2009 com a comercialização dos seus frutos. Em consequência do cultivo crescente, e dado o potencial invasor desta planta, os produtores sentiram a necessidade de dar um destino aos cladódios que tinham de eliminar para controlo do cultivo.

Este trabalho insere-se na perspetiva de economia circular, contribuindo para a valorização das partes da planta que são descartadas (os cladódios). O estudo visou o aproveitamento total da planta, com maior rendimento para os produtores e contribuindo para o aumento da disponibilidade de alimento.

Neste trabalho, avaliou-se a composição nutricional e a atividade antioxidante das diferentes variedades de cladódios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, produzidos em modo biológico, em Portugal, por um produtor de Torres Novas. O trabalho incluiu um estudo aprofundado dos macronutrientes com obtenção dos perfis de ácidos gordos, e vitamina E (gordura), dos aminoácidos totais e livres (proteína) e dos açúcares.

Os cladódios das diferentes variedades revelaram teores elevados de água, na ordem dos 90%. São de destacar os teores de fibra total (36 a 40 g/100 g de peso seco) das variedades laranja de Olaia e branca do Arrepiado. Os teores estimados de hidratos de carbono variaram entre 13,6 e 36,4 g/100 g de peso seco. O perfil de açúcares identificou, em todas as amostras, frutose (6,2-8,6 g/100 g de peso seco), glucose (3,4-7,4 g/100 g de peso seco) e sacarose (1,8-3,1 g/100 g de peso seco). Todas as amostras apresentam teores elevados de cinzas (17-27 g/100 g de peso seco).

O perfil em ácidos gordos permitiu determinar a presença dos ácidos gordos essenciais (ácidos linoleico e linolénico). A gordura da amostra laranja de Olaia é a mais rica em ácidos gordos saturados (52%) e a da branca da Barquinha a mais rica em ácidos gordos polinsaturados (53%). O perfil de vitamina E revelou a presença de 4 vitâmeros em todas as amostras: α -tocoferol, α -tocotrienol, β -tocoferol e γ -tocoferol.

No perfil de aminoácidos totais foram quantificados dezoito aminoácidos, dos quais nove considerados essenciais. Os ácidos glutâmico (0,32 - 0,76 g/100 g de peso seco) e aspártico (0,29 - 0,66 g/100 g de peso seco) foram os maioritários em todas as amostras. Em todas as amostras foram identificados aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina), bem como prolina e arginina. Todos os aminoácidos

essenciais foram igualmente identificados, na forma livre, nas quatro variedades de cladódios.

Os compostos fenólicos totais e os flavonoides foram também determinados, bem como a atividade antioxidante pelos métodos de redução do ião férrico e de inibição do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo. O teor de fenóis totais variou entre 1053 e 1825 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de peso seco. Os teores de flavonoides variaram entre 86 e 105 mg equivalentes de catequina/100 g de peso seco. A variedade vermelha de Olaia apresentou maior atividade antioxidante determinada pelo método de redução do ião férrico (4819 μ mol equivalentes de sulfato ferroso/100 g de peso seco) e a laranja de Olaia maior atividade antioxidante pelo método de inibição do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (346 mg equivalentes de trolox/100 g de peso seco).

A riqueza nutricional dos cladódios mostra que estes apresentam potencial para utilização como ingrediente, na formulação de produtos para a alimentação humana e para promover o desenvolvimento sustentável do país, com recurso a culturas em que o aproveitamento da planta seja integral.

Palavras chave: Cladódios, *Opuntia ficus-indica*, análise nutricional, tocoferóis, ácidos gordos, aminoácidos

Abstract

Opuntia ficus-indica (L.) Miller, commonly known as “figueira-da-Índia” is originally from Mexico. This plant arrived in Europe by the time of the Portuguese discoveries and expanded to regions with favorable edaphoclimatic conditions. In Portugal, it grew spontaneously, mainly in the Algarve and Alentejo regions. Its intensive and orderly cultivation gained greater expression since 2009 with the commercialization of its fruits. As a result of the growing cultivation, and given its invasive potential, the producers saw a growing need to give a destination to the cladodes that they had to eliminate to control the cultivation.

This work has a perspective of circular economy, contributing to the valorization of the parts of the plant that are currently discarded (the cladodes). This study aimed at making a full use of the plant, intending a greater yield for the producers while contributing to the increase the food availability.

In this work, the nutritional composition and antioxidant activity of the different varieties of *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller cladodes, produced in biological mode, in Portugal, by a Torres Novas producer were evaluated. The study included a thorough study of macronutrients composition, as well as the profiles of fatty acids, vitamin E (fat), total and free amino acids (protein) and sugars.

The cladodes of the different varieties showed high levels of water (around 90%). The total fiber content should be highlighted for both *laranja de Olaia* and *branca do Arrepiado* varieties (36 and 40 g/100 g of dry weight, respectively). The estimated carbohydrate levels varied between 13.6 and 36.4 g/100 g of dry weight. The sugars profile identified fructose (6.2-8.6 g/100 g of dry weight), glucose (3.4-7.4 g/100 g of dry weight) and sucrose (1.8-3.1 g/100 g of dry weight) in all samples. All samples had high ash contents (17-27 g/100 g of dry weight).

The fatty acid profile showed the presence of essential fatty acids (linoleic and linolenic acids). The fat in *laranja de Olaia* variety was the richest in saturated fatty acids (52%) and the *branca da Barquinha* was the richest in polyunsaturated fatty acids (53%). The vitamin E profile revealed the presence of 4 vitamers in all samples: α -tocopherol, α -tocotrienol, β -tocopherol and γ -tocopherol.

The total amino acid profile presented eighteen amino acids, nine of which are considered essential. Glutamic acid (0.32 - 0.76 g/100 g of dry weight) and aspartic acid (0.29 - 0.66 g/100 g of dry weight) were the major compounds in all samples. Branched-chain amino acids (leucine, isoleucine and valine) as well as proline and arginine were

also identified in all samples. All essential amino acids were identified in free form, in the four varieties of cladodes.

Total phenolic compounds and flavonoids were also determined, as well as antioxidant activity by ferric ion reduction and 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical inhibition methods. The content of total phenols varied between 1053 and 1825 mg gallic acid equivalents/100 g of dry weight. The flavonoid levels varied between 86 and 105 mg catechin equivalents/100 g of dry weight). The *vermelha de Olaia* variety presented higher antioxidant activity by the ferric ion reduction method (4819 μ mol ferrous sulphate equivalents/100 g of dry weight) and *laranja de Olaia* had the highest antioxidant activity by the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical inhibition method (346 mg trolox equivalents/100 g of dry weight).

The results show that the cladodes have the potential to be used as an ingredient in the formulation of products for human consumption while promoting the sustainable development of the country, using the whole plant.

Keywords: Cladodes, *Opuntia ficus-indica*, nutritional analysis, tocopherols, fatty acids, amino acids

Divulgação de resultados

Durante o desenvolvimento deste mestrado foram apresentados os seguintes trabalhos:

Comunicações orais

L. Espírito Santo, A. Gomes, M. A. Nunes, A. S. G. Costa, A. Rocha, M.B.P.P. Oliveira, “*Opuntia ficus-indica* - red variety: comparative analysis between cladodes and fruit”, 12th Meeting of Young Researchers of University of Porto. Porto, Portugal 2020.

L. Espírito Santo, Maria Antónia Nunes, Alan Gomes, Anabela Costa, M.B.P.P. Oliveira, “Cladódios: Do cato para o prato?”, Fascínio das Plantas, 16 de maio de 2019, Complexo ICBAS-FFUP, Porto, Portugal.

Comunicações em poster

L. Espírito Santo, M. A. Nunes, A. Gomes, A. S. G. Costa, A. Rocha, M.B.P.P. Oliveira, “Cladódios da *Opuntia ficus-indica* Miller: porquê consumir?”, 1º Simpósio INIAV para a Segurança Alimentar “RUMO À ALIMENTAÇÃO DO FUTURO; 28 de novembro de 2019, Auditório Municipal de Vila do Conde, Portugal.

L. Espírito Santo, M. A. Nunes, A. Gomes, A. S. G. Costa, A. Rocha, M. B. B. P. Oliveira, “Valorização de quatro variedades de cladódios de *Opuntia ficus-indica* Miller “, XXV Encontro Galego-Português de Química, 20-22 de novembro de 2019, Santiago de Compostela, Espanha.

L. Espírito Santo, M. Antónia Nunes, Alan Gomes, Anabela S. G. Costa, Ada Rocha, M. Beatriz P. P. Oliveira, “Nutritional composition of four varieties of *Opuntia ficus-indica* Miller cladodes.”, XX EuroFoodChem Congress, Complexo ICBAS-FFUP, 17-19 de junho 2019, Porto, Portugal.

Concursos

1º Concurso InovOpuntia

Participação no concurso InovOpuntia que visava a criação de um produto inovador com figo-da-índia que decorreu a 5 de dezembro de 2019 na Escola de Hotelaria e Turismo de Portimão, Portimão, Portugal.

1. Introdução

1.1 Enquadramento teórico

Atualmente, a *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller (OFI) faz parte da paisagem de muitas regiões áridas e semiáridas, sendo pouco comum a sua cultura em regiões de solos de pouca aptidão agrícola e de escassez de recursos hídricos. No entanto, esta planta tem uma grande resistência à seca e a temperaturas elevadas, adaptando-se com facilidade a regiões com estas características o que permite pensar nesta planta como forma de desenvolvimento económico destas zonas (Almeida, 2014).

A OFI é reconhecida pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) como a “Planta do Futuro”, uma vez que toda a planta, do fruto aos caules, cladódios e flores é uma fonte infindável de recursos. Inicialmente era considerada uma planta selvagem, mas mais tarde passou a ser cultivada (Inglese, 2017).

Em Portugal, a OFI é conhecida como figueira-da-índia e é pouco explorada. Começou por ser utilizada para fins ornamentais, para delimitação de espaços (sebes), e o fruto era consumido apenas esporadicamente (Reis, Ribeiro, & Gazarini, 2014). Recentemente, a planta passou a ser explorada para a produção do fruto, sendo os seus cladódios usados para forragem ou repovoamento. No entanto não há qualquer reconhecimento para a alimentação humana como acontece noutros países (INIAV, 2016; Reis, Ribeiro, & L. Gazarini, 2014).

Este trabalho pretendeu, numa perspetiva de economia circular, contribuir para a valorização da figueira-da-índia, concretamente os cladódios, de forma a promover o seu aproveitamento integral, contribuindo para diminuir o desperdício e para o aumento da disponibilidade alimentar.

Numa abordagem mais global pretendeu-se com este estudo contribuir para o desenvolvimento sustentável da agricultura, de forma a dar resposta às preocupações globais assinaladas em 2015, no sentido de decidir estratégias para erradicar a pobreza, promover a prosperidade e o bem-estar global, proteger o meio ambiente e dar resposta às alterações climáticas. Nessa altura, foi criada uma agenda de desenvolvimento sustentável, a Agenda 2030, que contou com o contributo de governos e cidadãos. A Agenda 2030 é constituída por 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)

(figura 1) que abrangem diferentes áreas, pretendendo incidir sobre o consumo e produção sustentáveis, o combate à mudança climática e à gestão dos recursos naturais (Assembly, 2015).



Figura 1 - ONU (2015) Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, Agenda 2030

O trabalho que se apresenta enquadra-se no objetivo 12 – Produção e Consumo Sustentáveis, que pretende até 2030 atingir, entre outras, as seguintes metas:

- *alcançar a gestão sustentável e o uso eficiente dos recursos naturais;*
- *reduzir para metade o desperdício de alimentos per capita a nível mundial, de retalho e do consumidor, e reduzir os desperdícios de alimentos ao longo das cadeias de produção e abastecimento, incluindo os que ocorrem pós-colheita;*
- *reduzir substancialmente a geração de resíduos por meio da prevenção, redução, reciclagem e reutilização (Walker, Pekmezovic, & Walker, 2019).*

É urgente repensar e reconsiderar a forma como se vive e trata o planeta. A mensagem com que o Secretário-geral das Nações Unidas, António Guterres, assinalou o dia do planeta deixa o alerta: “...há outra emergência profunda - a crise ambiental do planeta. A biodiversidade está em declínio acentuado. A rutura climática está a chegar a um ponto sem retorno. Devemos agir sem hesitação para proteger o nosso planeta...” (ONUNews, 2020). Neste sentido, urge uma tomada de decisões que beneficiem não só as necessidades do ser humano, mas que respeitem igualmente o planeta e todos

os seres vivos que nele habitam. Para isso, é necessário fazer-se escolhas que promovam a sustentabilidade e que permitam atingir os objetivos principais da FAO: garantir segurança e acesso a alimentos, em quantidade e qualidade suficiente, para que todos possam ter uma vida ativa e saudável. É imperioso gerir e utilizar de forma sustentável os recursos naturais (FAO, 2020).

1.2 *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller

1.2.1 Classificação e origem

A *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller (figura 2) é uma planta arbustiva perene, suculenta e ramificada. Pertence à família *Cactaceae* tratando-se, portanto, de um cato de grandes dimensões, que pode atingir seis metros de altura. Reconhece-se esta planta por apresentar caules terminais (cladódios) de forma oval, achatados, carnudos e lenhosos, com 30 a 50 cm de tamanho e que podem ter espinhos à superfície (Marchante, Morais, Freitas, & Marchante, 2014; Van Der Meer & Ortiz, 2006). Os cladódios têm a capacidade de se adaptar a ambientes áridos e semiáridos pelo facto de possuírem um metabolismo CAM (metabolismo ácido das crassuláceas). Tem a capacidade de sintetizar hidratos de carbono, garantindo que a planta seja resistente à seca e tenha uma elevada eficiência de uso de água (AJP, 2017; INIAV, 2016).



Figura 2 – Cladódios e frutos da *Opuntia ficus-indica*, pomar de Olaia, Torres Novas, Portugal

As flores (figura 3) apresentam 7 a 8 cm de diâmetro, podendo ser amarelas ou laranja intenso. Os seus frutos edíveis, carnudos, sem caroço, mas com sementes, têm

forma obovoide, acentuadamente umbilicados nas extremidades e podem ser de várias cores, apresentando igualmente espinhos à superfície. Devido à sua semelhança com figos são denominados figos-da-índia (Marchante *et al.*, 2014).



Figura 3 – Cladódios com flores da *Opuntia ficus-indica*, pomar de Olaia, Torres Novas, Portugal

A OFI foi descrita e domesticada no México (Griffith, 2004). Chegou à Europa e, conseqüentemente, a Portugal na época dos descobrimentos. Disseminou-se pelo país e adaptou-se facilmente às condições edafoclimáticas. A sua introdução em Portugal fez-se para fins ornamentais, bem como pelo interesse que o seu fruto despertou (INIAV, 2016).

Apesar de estar naturalizada e com cultivo em Portugal (Rodrigues, Reis, Blasco, Fonseca, & Monteiro, 2014), durante muito tempo foi classificada como uma espécie invasora. Por um lado, tratava-se de uma espécie não nativa e, por outro, porque se desenvolve rapidamente, facilmente sai do controlo humano, causando impactes negativos, tanto nos ecossistemas ambientais como económicos, com necessidade de recorrer a diferentes medidas de controlo. O facto de se reproduzir facilmente é uma das características que facilitam a invasão. Reproduz-se por via seminal, através da dispersão de sementes, mas também vegetativamente, ou seja, por fragmentos. Neste caso, os cladódios desprendem-se, enraízam e dão origem a novas plantas (invasoras.pt, 2014) (Marchante *et al.*, 2014).

O crescimento não controlado desta planta pode ocorrer em diferentes ambientes. No entanto, tem preferência por zonas áridas, zonas costeiras, zonas rochosas, zonas marginais, mas também qualquer zona onde possa crescer, formando povoamentos densos, impenetráveis que não favorecem a biodiversidade nativa (Marchante *et al.*, 2014).

Desde julho de 2019 que deixou de ser classificada, em Portugal, como uma planta invasora, passando a estar incluída na lista de espécies sujeitas ao regime de exceção, ou seja, passou a ser permitida a sua introdução e repovoamento na natureza, conforme o Decreto-Lei 92/2019, de 10 de julho que surge ao proceder à revisão do regime instituído pelo Decreto-Lei n.º 565/99, de 21 de dezembro (Presidência do Conselho de Ministros, 2019).

A cultura da figueira-da-índia tem tido grande expressão no mundo devido às suas características únicas de adaptação a condições edafoclimáticas severas. É uma planta que pode crescer em terras onde nenhuma outra cultura é capaz de crescer, podendo reabilitar terras de pouca aptidão agrícola em muitos países, nomeadamente a Etiópia, em que esta colheita é a solução quando tudo o resto falha (Inglese, 2017).

Originária do México, a OFI foi introduzida noutros países como Marrocos, Etiópia, África do Sul, Quénia, Índia e Paquistão onde tem aumentado a sua produção e uso. Na Europa está presente em países como Espanha, Itália e Portugal (Sáenz *et al.*, 2013).

Pelo referido, as plantações de OFI são uma cultura de interesse para alimentação humana e animal, principalmente em regiões de desertificação (Sáenz *et al.*, 2013), permitindo gerar recursos em zonas pobres e pouco produtivas.

Desde o século XVI o maior produtor a nível mundial de OFI é o México (Jesus, 2014). Em 1995, a área de cultivo era de aproximadamente 52 000 hectares, com uma produção anual de frutos que rondava as 300 000 toneladas. A seguir ao México, destacava-se a Itália com cerca de 2500 hectares de cultivo, com produção anual de 50 000 toneladas de frutos (Inglese, Barbera, & La Mantia, 1995).

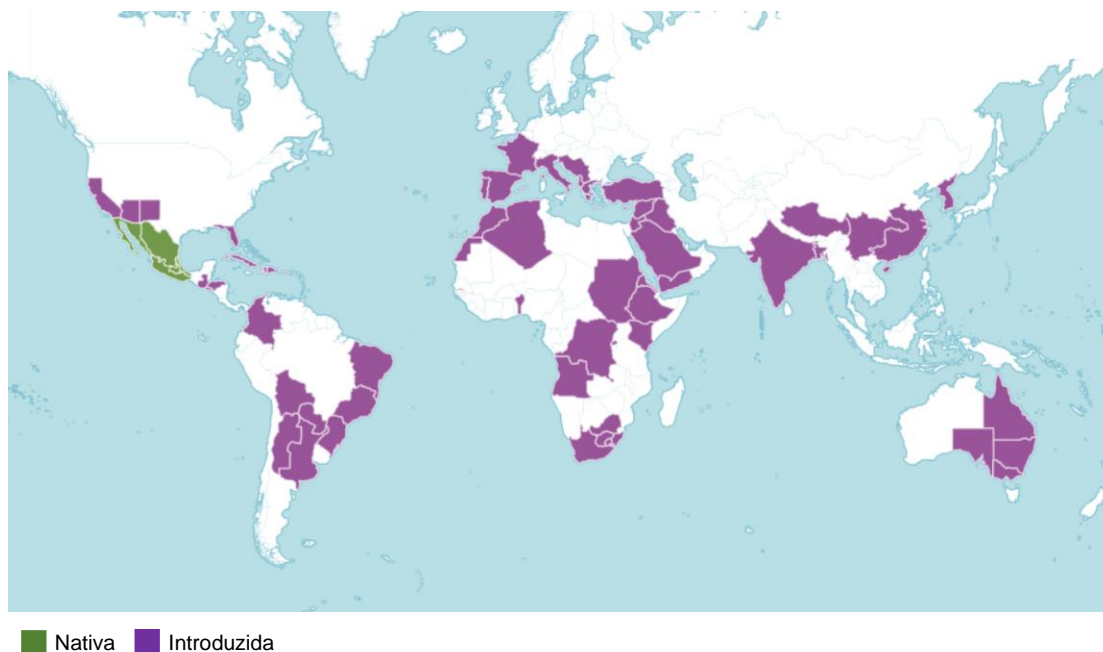


Figura 4 – Distribuição da *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller (adaptado de <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:1151735-2#distribution-map>)

Em 2017, a produção mundial de figo-da-índia ocupava 100 000 hectares de exploração distribuídos pelo mundo (AJP, 2017). No México é possível encontrar explorações com mais de 15 000 hectares, com produção de cladódios jovens (designados localmente por *Nopalitos*), consumidos como vegetais, pertencendo assim, ao padrão alimentar mexicano. A OFI é a espécie mais importante para a produção de *Nopalitos* (Inglese, 2017; Mello, Santos, Silva & Coelho, 2016).

Em Portugal, a cultura intensiva de figo-da-índia surgiu em 2008, em resposta à crise económica, principalmente na região sul de Portugal, onde os solos são de pouca aptidão e a disponibilidade de água é um fator limitante, as condições favoráveis ao desenvolvimento desta planta. A produção de figo-da-índia pretendeu dar um contributo significativo e sustentável para o desenvolvimento destas regiões e das suas populações (Almeida, 2014; INIAV, 2016).

Em Portugal, o primeiro pomar surgiu em 2009. Desde então, o número de agricultores e hectares plantados tem vindo a aumentar, atualmente com uma ocupação de cerca de 200 hectares (INIAV, 2016). Um exemplo desta atividade é a região de Olaia e Paço, Centro de Portugal, concelho de Torres Novas, com uma exploração de figo-da-índia (1,2 ha), com uma produção de 1 tonelada de fruto por hectare plantado.

Esta região, de clima quente e temperado, tem maior pluviosidade no inverno do que no verão. De acordo com a Classificação climática de Köppen-Geiger o seu clima é classificado como Clima mediterrânico, de verão quente, ou seja, a temperatura média do mês mais frio é superior a $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$; pelo menos um mês tem temperatura média acima de $22\text{ }^{\circ}\text{C}$; e quatro meses no ano apresentam temperatura média superior a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. No mês mais chuvoso do inverno ocorre três vezes mais precipitação do que no mês mais seco do verão. Em Torres Novas, a temperatura média é $16,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a pluviosidade média anual de 744 mm (Kottek, Grieser, Beck, Rudolf, & Rubel, 2006), revelando-se, assim, uma região que reúne as condições climáticas de excelência para a cultura de figo-da-índia, uma vez que é uma planta que se adapta a exigências climáticas de zonas quentes, áridas e semiáridas, assim como zonas de *secura extrema* (Regato & Fole, 2015).

1.2.2 A *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller como recurso natural

A capacidade de adaptação da OFI é motivo mais que suficiente para ser considerada como um recurso precioso. Uma das suas características mais marcantes é a sua anatomia e morfologia, que lhe permitiram adaptar-se a muitas condições de crescimento de grande stress. A planta pode ser uma opção viável em regiões onde outras plantas não sobrevivem (Sáenz *et al.*, 2013).

Esta planta tem um grande potencial, uma vez que a sua utilização não se limita ao seu fruto. Outras partes da OFI podem ser aproveitadas por várias indústrias e ter diferentes aplicações, tais como na área da alimentação humana e animal, cosmética e nutracêuticos (Corrales-García, 2011; Saenz, 2000; Tajra, Pereira, Bernardo, & Batista, 2019). São exemplo os cladódios, pois quando jovens (*nopalitos*), com 10 a 15 cm , são tenros e, portanto, podem ser consumidos como hortícolas. Posteriormente, quando parcialmente lenhificados, o que acontece num período que pode ir de 2 a 3 anos, podem ser usados para a produção de farinhas com diversas aplicações (Sáenz *et al.*, 2013).

Do ponto de vista ambiental, as *Opuntias spp.* desempenham um papel decisivo na redução do CO_2 atmosférico. A importância agronómica da espécie é atribuída à sua aptidão para o cultivo em áreas áridas e semiáridas, onde a água é escassa. Uma das mudanças ambientais que mais afetam o planeta é o aumento do CO_2 atmosférico que resulta da desflorestação e do imenso uso de recursos energéticos fósseis. Assim, a

OFI pode funcionar como opção para absorver e reter o excesso de CO₂ em áreas onde possa ser plantada, especialmente em zonas onde outras espécies não crescem (Sáenz *et al.*, 2013), compensando em parte a desflorestação.

1.3 Caracterização química dos cladódios

A composição química e nutricional varia de acordo com a idade, cultivares ou variedade e fatores ambientais (condições edafoclimáticas, gestão de culturas, incluindo fertilizantes e tratamento pós-colheita) aos quais as plantas se encontram sujeitas (El-Mostafa *et al.*, 2014; Inglese, 2017; Méndez, Flores, Martín, Rodríguez, & Romero, 2015).

Composição Nutricional

Esta planta tem despertado bastante interesse pela sua adaptabilidade a condições edafoclimáticas severas, como referido, mas também pela sua composição nutricional.

A composição em nutrientes é semelhante em cladódios de um ou dois anos de idade. No entanto, observa-se um maior teor de matéria seca e menor teor de proteína nos meses de verão (Nefzaoui & Ben Salem, 1998).

Os cladódios destacam-se pelo seu elevado teor em água (91-95%) e pequena quantidade de hidratos de carbono, fibra e proteína (Ayadi, Abdelmaksoud, Ennouri, & Attia, 2009; Méndez *et al.*, 2015; Rocchetti, Pellizzoni, Montesano, & Lucini, 2018)

Minerais

Os minerais são nutrientes importantes para o bom funcionamento do organismo humano e animal e representam 4% do peso corporal. Tal como as vitaminas, os minerais não podem ser sintetizados pelo organismo e, por isso, têm de ser fornecidos através da alimentação (DGS, 2006). São fundamentais para muitas reações enzimáticas do organismo, regulam o metabolismo, a mineralização de ossos e dentes, facilitam o transporte de oxigénio e dióxido de carbono no sangue e são necessários para o transporte de nutrientes para dentro e para fora das células.

No estudo realizado por Hernández-Urbiola *et al.* (2010) em cladódios em pó, de diferentes estados de maturação, foi determinada a composição mineral. Verificaram que cladódios com diferentes dias de maturação apresentam o magnésio como mineral maioritário, tendo os cladódios com 60 dias apresentado maior quantidade deste elemento (1120 mg/100 g). Destacam-se ainda elementos como o ferro, detetado em quantidade superiores nos cladódios de 135 dias (22 mg/100 g) e o sódio nos cladódios de 80 dias de maturação (550 mg/100 g) (Hernández-Urbiola *et al.*, 2010). Num outro estudo, os autores analisaram os cladódios de plantas que davam frutos com polpa laranja e determinaram quantidades mais elevadas de cálcio (181 mg/100 g), zinco (0,532 mg/100 g) e manganês (0,826 mg/100 g) do que cladódios de frutos com polpa verde (173 mg/100 g; 0,204 mg/100 g; 0,734 mg/100 g, respetivamente) (Méndez *et al.*, 2015)

O teor total de cinzas bem como a sua composição química podem depender também de diferentes fatores como o pH, disponibilidade de água, textura e composição do solo (Hernández-Urbiola *et al.*, 2010), além da variedade.

Vitaminas

As vitaminas são constituintes nutricionalmente importantes da OFI e essenciais para o metabolismo humano. Nos cladódios, alguns estudos referem a presença de vitamina C, B1, B2 e B3. A vitamina E é também reportada na literatura (El-Mostafa *et al.*, 2014; Tahir, Xiaobo, Komla, & Mariod, 2019) sendo as vitaminas C e E as mais abundantes.

Os catos são fontes importantes de compostos bioativos e a sua utilização poderá contribuir para a formulação de produtos alimentares funcionais e nutracêuticos (FAO, 2017). Os seus cladódios contêm vitaminas, antioxidantes e vários flavonoides, particularmente quercetina 3-metil éter (El-Mostafa *et al.*, 2014).

Perfil em ácidos gordos da gordura

Os ácidos gordos essenciais desempenham um papel importante na promoção da saúde (Guiné & Henriques, 2011), e têm de ser fornecidos pela alimentação. Apesar do baixo teor em gordura, há estudos que referem a presença de ácidos gordos essenciais, nomeadamente de ácido linoleico (C18:2), em cladódios jovens e adultos. O ácido palmítico (C16:0) surge como composto maioritário de cladódios jovens. De uma

forma geral, os cladódios adultos tendem a apresentar maiores percentagens de ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados comparativamente com os jovens (Andreu-Coll *et al.*, 2019).

Carotenoides

Os carotenoides, apesar de não serem nutrientes, são compostos que desempenham um papel importante no organismo humano. Há estudos que evidenciam que a sua capacidade antioxidante está associada à redução do risco de cancro, cataratas, arteriosclerose e prevenção do envelhecimento (Silva, Costa, dos Santos Santana, & Koblitz, 2010).

Segundo Leopoldo *et al.* (2012) foram identificados nos cladódios jovens luteína, β -caroteno e α -criptoxantina. O teor total de carotenoides reportado foi de 247,8 $\mu\text{g/g}$, correspondendo a 36% de β -caroteno, 19% de α -criptoxantina e 45% de luteína. Por sua vez, Jaramillo-Flores *et al.* (2003), obtiveram um teor de carotenoides de 231,8 $\mu\text{g/g}$, correspondendo a 36% de caroteno, 46% de luteína e 18% de criptoxantina. Estas diferenças poderão estar relacionadas com a variedade, local de origem, maturidade ou método de análise.

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabolitos secundários das plantas, que apresentam uma grande diversidade estrutural, nomeadamente, estruturas simples (ex.: ácido gálgico, ácido cafeico) e estruturas mais complexas (polifenóis) como nos flavonoides (Cheynier, 2012). Estes fitoquímicos são reconhecidos como compostos bioativos ou funcionais e podem contribuir para a prevenção de doenças. Por outro lado, são também importantes na qualidade dos alimentos à base de plantas, sendo responsáveis pela cor, sabor e escurecimento dos alimentos (Andreu, Nuncio-Jauregui, Carbonell-Barrachina, Legua, & Hernandez, 2018; Cheynier, 2012).

Todas as partes da OFI, onde se incluem os cladódios, são ricas em compostos fenólicos, como flavonoides, ácidos fenólicos e outros compostos, o que torna esta planta potencial candidata para inclusão na dieta ou para uso terapêutico (El-Mostafa *et al.*, 2014).

A presença de inúmeros compostos polifenólicos em cladódios da *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller foi previamente descrita, de acordo com a revisão de Tahir *et al.* (2019), onde se identificaram ácidos fenólicos (ácido cafeico, gálico e cumárico, entre outros) e flavonoides como a quercetina, kaempferol, catequina, cianidina e outros.

1.4 Possíveis benefícios dos cladódios para a saúde

A ingestão de frutas e hortícolas está ligada à prevenção da doença cardíaca coronária e a alguns tipos de cancro, o que significa que a inclusão destes alimentos na dieta tem efeitos positivos na saúde (Bazzano *et al.*, 2002). Esses efeitos benéficos estão associados, não apenas ao teor de nutrientes e vitaminas dos alimentos, mas também à ação de certos componentes bioativos. Como já referido, os fitoquímicos com propriedades antioxidantes contribuem para a prevenção de doenças e promoção da saúde, protegendo contra o dano oxidativo induzido por espécies reativas de oxigénio (Prakash & Gupta, 2009).

Durante milhares de anos, os catos foram usados pelas civilizações antigas para curar doenças e feridas, estando descrito que os nativos consumiam cato fresco devido às suas propriedades nutricionais e curativas (Inglese, 2017).

Os cladódios, assim como outras partes da OFI, têm uma composição característica em antioxidantes, polissacarídeos de pectina e fibras. Vários estudos demonstram que os cladódios apresentam teores consideráveis de nutrientes, minerais e vitaminas, bem como antioxidantes (El-Mostafa *et al.*, 2014). Esta planta poderá ser integralmente explorada, uma vez que os compostos bioativos podem ser extraídos das suas diferentes partes (flores, frutos, cladódios, raízes e sementes) (Nazareno, 2014) para posterior utilização. A tabela 1 resume as mais relevantes propriedades medicinais atribuídas aos cladódios.

Tabela 1 - Propriedades benéficas associadas aos cladódios da *Opuntia ficus-indica*

Atividade biológica	Referência
Ação anti-inflamatória	Feugang, Konarski, Zou, Stintzing, & Zou, 2006
Ação antiviral	Fernandez, 1994.
Efeito anti-hiperlipidémico e redução do colesterol	Galati, Tripodo, Trovato, d'Aquino, & Monforte, 2003.
Atividade antimicrobiana	El-Mostafa et al., 2014.
Efeito anti-ulcerogénico e antigastrite	Galati, Monforte, Tripodo, d'Aquino, & Mondello, 2001; Galati, Pergolizzi, Miceli, Monforte, & Tripodo, 2002.
Efeito diurético	Galati et al., 2002.
Fator anti-obesidade	Frati, Vera, & Ariza, 1992
Proteção contra danos oxidativos induzidos pela zearalenona	Zourgui, El Golli, Bouaziz, Bacha, & Hassen, 2008.
Proteção contra toxicidade induzida por níquel	Hfaiedh et al., 2008
Propriedades curativas	Hegwood, 1990

Fonte: (El-Mostafa et al., 2014; Inglese, 2017)

Possíveis usos dos cladódios para consumo alimentar

A utilização de *nopalitos* é uma realidade de muitas culturas gastronómicas de países como o México, Sicília, Argélia, Chile, Norte de África, Brasil, Japão e Estados Unidos da América (Sapata, Ferreira, & Oliveira 2018).

No México e no sul dos Estados Unidos da América, as indústrias de alimentos utilizam os cladódios jovens (*nopalitos*) como produto principal para preparados em salmoura ou em conserva em vinagre, molhos e incorporado em alimentos como sopas, guisados, doces, bebidas e farinha (Sáenz *et al.*, 2013; Sapata, Ferreira, & Oliveira 2018). No entanto, o seu consumo pode ser feito como hortícola, por exemplo, em saladas, sendo possível o seu consumo sem qualquer processamento (Rodrigues *et al.*,

2014). Os cladódios podem ainda ser consumidos como sumos, ou armazenados como pó desidratado, com alto teor de fibras alimentares (Andreu-Coll *et al.*, 2019). São também de interesse para a indústria alimentar, devido às suas propriedades espessantes e gelificantes (Sepúlveda, Sáenz, Aliaga, & Aceituno, 2007).

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

O objetivo deste trabalho consistiu em avaliar e valorizar o subproduto da produção do figo-da-índia, os cladódios, como alimento, de forma a contribuir para a diversificação alimentar, na perspetiva de assegurar o acesso a alimentos de qualidade e em quantidade apropriada para uma alimentação saudável.

2.2. Objetivos específicos

De forma a dar resposta ao objetivo geral deste trabalho desenvolveram-se tarefas que permitiram:

- Avaliar a composição nutricional (teor de humidade; proteína e perfil de aminoácidos; gordura total, perfil de ácidos gordos e de vitamina E; fibra total; açúcares livres; e hidratos de carbono;
- Determinar o teor de compostos bioativos (compostos fenólicos e flavonoides);
- Determinar a atividade antioxidante, recorrendo a diferentes métodos.

3. Metodologias

Todo o trabalho foi desenvolvido na REQUIMTE/LAQV (Rede de Química e Tecnologia/Laboratório Associado para a Química Verde, Tecnologias e Processos Limpos) no grupo de investigação da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP), sob a responsabilidade da Prof. Doutora Beatriz Oliveira, que disponibilizou todas as condições e equipamentos adequados para a execução deste trabalho, assim

como uma larga experiência na aplicação de metodologias para a caracterização físico-química e biológica de subprodutos resultantes da indústria agroalimentar com vista à sua valorização.

As determinações de parâmetros químicos foram realizadas de acordo com as técnicas laboratoriais já amplamente implementadas no Grupo de Investigação.

3.1. Amostras

As amostras foram obtidas num pomar em Torres Novas (figura 5), nas zonas do Arrepiado e Olaia. Foram quatro as variedades de cladódios estudadas, branca do Arrepiado (BA), branca da Barquinha (BB), laranja (L) e vermelha de Olaia (V), todas em estado adulto. Alguns cladódios são aproveitados para repovoamento do pomar e outros são considerados resíduo e têm de ser descartados. O problema é que se descartados no campo, passado algum tempo estão novas plantas em desenvolvimento, dado o seu caráter de planta invasora. Os cladódios que foram sujeitos à análise química, com cerca de 2 anos, foram cedidos pelo produtor em dezembro de 2018.



Figura 5 – *Opuntia ficus-indica*, pomar de Torres Novas

3.2. Preparação das amostras

Os cladódios foram cuidadosamente empacotados e transportados em caixas, de forma a garantir a sua preservação. No laboratório, efetuou-se a remoção manual de todos os espinhos, e procedeu-se à avaliação dos parâmetros biométricos. Posteriormente foram lavados com água desionizada e secos com papel absorvente; de seguida foram cortados e depois trituradas no Robô Vorwerk Bimby® TM5 para obter uma polpa homogénea. O teor de humidade foi analisado na polpa fresca e a restante polpa foi congelada a – 80 °C para posterior liofilização.

3.3. Reagentes e padrões

Os reagentes utilizados eram de grau analítico e foram os seguintes:

Proteínas

Pastilhas catalisadoras Kjeldahl ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{CuSO}_4$) e ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado 98% da Merck (Darmstadt, Alemanha); hidróxido de sódio (NaOH) da VWR International (Leuven, Bélgica); ácido bórico (H_3BO_3) da Panreac (Barcelona, Espanha); e ácido sulfúrico (H_2SO_4) com concentração 0,5 M da Carlo Erba (Val de Reuil, France).

Determinação do perfil em aminoácidos livres e totais

Metanol HPLC, acetonitrilo HPLC, azida de sódio e ácido clorídrico (37%) da Riedel-de Haën (Honeywell, Carolina do Norte, EUA); tetraborato de sódio decahidratado, hidrogenofosfato disódico e hidróxido de potássio da Merck (Darmstadt, Alemanha); ortoftaldeído (OPA), 9- fluorenilmetoxicarbonil (FMOC) e o tampão borato 0,4 N da Agilent Technologies (Santa Clara, EUA); kit de padrões de aminoácidos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). A água ultrapura utilizada para a preparação dos eluentes foi obtida a partir de um sistema de purificação de água Seralpur PRO 60 CN e Seradest LFM 20 (Ransbach-Baumbach, Alemanha).

Determinação da gordura total

Sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) da Merck (Darmstadt, Alemanha); éter de petróleo da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); areia da VWR International, (Leuven, Bélgica).

Determinação da composição em vitamina E

n-Hexano HPLC da Merck (Darmstadt, Alemanha); 1,4-dioxano da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); padrões de tocoferóis e tocotrienóis: α , β , γ , δ -tocoferol e α , β , γ , δ -tocotrienol da Calbiochem (La Jolla, CA, EUA); padrão interno de tocol: 2-metil-2-(4,8,12-trimetil tridecil)-cromano-6-ol da Matreya Inc (PA, EUA).

Determinação da composição em ácidos gordos

Diclorometano da VWR International (Leuven, Bélgica); hidróxido de potássio da Panreac (Barcelona, Espanha); n-hexano (HPLC) e sulfato de sódio anidro da Merck (Darmstadt, Alemanha); trifluoreto de boro (BF_3 , 14% em metanol) da Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA); mistura de padrões de ácidos gordos (FAME 37, Supelco, Bellefonte, PA, USA).

Determinação de fibra total

Kit de enzimas (α -amilase, protease e amiloglucosidase) da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); hidrogenofosfato dissódico anidro e dihidrogenofosfato de sódio da Merck (Darmstadt, Alemanha); hidróxido de sódio e ácido clorídrico com concentração 1,0 M da Carlo Erba (Val de Reuil, France); etanol da Aga (Prior Velho, Portugal); acetona da VWR International (Leuven, Bélgica).

Determinação da composição em açúcares livres

Acetonitrilo HPLC da Riedel-de Haën (Honeywell, Carolina do Norte, EUA); frutose, glucose e sacarose da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA).

Extração e determinação de compostos bioativos e atividade antioxidante

Etanol absoluto da Fisher Chemical (Loughborough, Inglaterra); carbonato de sódio (Na_2CO_3), ácido gálglico, catequina, DPPH• (radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), trolox, TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina), nitrito de sódio (NaNO_2), cloreto de alumínio (AlCl_3) sulfato ferroso (FeSO_4), acetato de sódio, ácido acético glacial e cloreto férrico da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); reagente de Folin-Ciocalteu da Merck (Darmstadt, Alemanha); hidróxido de sódio (NaOH) 1,0 M Carlo Erba (Val de Reuil, France).

3.4. Equipamentos

- Robô Vorwerk Bimby® Thermomix TM5 (Vorwerk Bimby®, Alemanha)

- Arca congeladora
- Liofilizador CRYODOS -50, (Telstar, Barcelona – Espanha)
- Balança de humidade KERN® DBS 60-3 (KERN & SOHN GmbH, Alemanha)
- Mufla Thermolyne 48000 (Electrothermal Engineering Ltd, Essex, Reino Unido)
- Digestor automático Kjeldahl K-438 (Büchi®, Büchi Labortechnik AG, Suíça)
- Neutralizador de gases B-414 (Büchi®, Büchi Labortechnik AG, Suíça)
- Destilador automático K-360 (Büchi®, Büchi Labortechnik AG, Suíça)
- Mantas de aquecimento para extração, série Electromantle® EME (VWR International, Darmstadt, Alemanha)
- Huber Minichiller 300, refrigerante natural (HUBER™, Huber Kältemaschinenbau AG, Alemanha)
- Unidade de filtração CSF6 (VELP®SCIENTIFICA, Itália)
- Digestor enzimático GDE (VELP®SCIENTIFICA, Itália)
- Estufa (WTB binder 78532, Tuttlingen, Alemanha)
- Centrífuga (Heraeus Sepatech Labofuge Ae, Heraeus Instrumments, Alemanha)
- Microcentrífuga (Heraeus Sepatech Biofuge Pico, Heraeus Instrumments, Alemanha)
- Centrífuga (Heraeus Megafuge 16, Thermo Scientific, EUA)
- Vortex (VWR International, Darmstadt, Alemanha)
- Vortex (Reax top, Heidolph, Alemanha)
- Bloco de aquecimento (Block Heater SBH130D/3, Stuart, Reino Unido)
- Leitor de microplacas (BioTek Synergy HT, GENS5, EUA)
- Espectrofotómetro UV-1800 (Shimadzu – UV spectrophotometer, Kyoto, Japão)
- GC-FID (GC- 2010, Shimadzu, Columbia)
- Sistema HPLC (aminoácidos) da Jasco (Japão) equipado com um injetor automático (AS-4150), uma bomba (PU-980) e um detetor de fotodíodos (MD-2015PLUS) acoplado a um detetor de fluorescência (FP-2020PLUS), forno JONES CHROMATOGRAPHY (7981)
- Sistema HPLC (Vitamina E) da Jasco (Japão) equipado com um injetor automático (AS-4050), uma bomba (PU-4180) e um detetor de fotodíodos (MD-4015) acoplado a um detetor de fluorescência (FP-4025)
- Sistema HPLC (açúcares) da Jasco (Japão) equipado com um injetor automático (AS-4050), uma bomba (PU-4180), forno (CO-4061) e um detetor evaporativo com espalhamento de luz (ELSD- evaporative light scattering detector) Sedex 80 (SEDERE, Alfortville - França)

3.5. Determinação de parâmetros para a caracterização nutricional

Teor de humidade

O teor de humidade foi determinado com balança de humidade munida de lâmpada de infravermelho, a uma temperatura de 105 °C. Submeteram-se aproximadamente 2 g de amostra fresca a secagem, em triplicado, sendo os resultados expressos em g/100 g de amostra fresca.

Teor de cinzas

O teor de cinzas foi obtido por incineração direta de 0,5 g de amostra em mufla. O aquecimento começou a 110 °C e sofreu aumentos graduais da temperatura até aos 500-550 °C, até obtenção de cinzas brancas, de acordo com o método oficial da AOAC (AOAC 920.153, 2012). O teor de cinzas foi obtido pela diferença de massa, antes e após a incineração. A análise foi realizada em triplicado e os resultados expressos em g/100 g de amostra em peso seco.

Teor de proteína

O teor proteico foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC 928.08, 2012), através da quantificação do azoto total. Rigorosamente cerca de 0,5 g de amostra foram pesadas em papel isento de azoto e colocadas num tubo de Kjeldahl, juntamente com duas pastilhas catalisadoras (Kjeldahl tablets) e 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. A digestão ácida foi efetuada em digestor automático e os gases recolhidos por um neutralizador de gases. Desta forma, a matéria orgânica foi destruída por oxidação e o azoto orgânico originou sais de amónio.

Após a alcalinização do meio com 90 mL de hidróxido de sódio (NaOH, 32%), o amoníaco libertado foi destilado e recolhido em 60 mL de ácido bórico (H₃BO 4%, pH 4,65), segundo o manual Büchi Labortechnik AG, 2007. O destilado foi posteriormente titulado com H₂SO₄ (0,2 M) usando como indicador o vermelho de metilo. Para a determinação do teor de proteína das amostras, usou-se o fator de conversão 6,25 (Ayadi *et al.*, 2009; Tontisirin, 2003). As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em g/100 g de amostra em peso seco.

Para completar o conhecimento acerca da proteína procedeu-se ao estudo do perfil em aminoácidos.

Perfil de aminoácidos livres e totais por HPLC-Fluorescência

- Aminoácidos totais

Os aminoácidos totais foram quantificados de acordo com Machado *et al.* (2020), com algumas modificações. Para a determinação do triptofano utilizou-se uma hidrólise alcalina (KOH 4 M, 110 °C, 4 h) e para a determinação dos restantes aminoácidos recorreu-se a uma hidrólise ácida (HCl 6 M, 110 °C, 24 h). Pesaram-se rigorosamente cerca de 150 mg de amostra para tubos de hidrólise, aos quais se adicionaram 3 mL de HCl 6 M ou 3 mL KOH 4 M. As amostras foram submetidas a agitação em vortex e, de seguida, submetidas a uma corrente de azoto (durante 3 min). Posteriormente foram colocadas em bloco de aquecimento durante o tempo estabelecido para cada hidrólise. Depois de arrefecidas, as amostras foram centrifugadas e retirou-se uma alíquota de 50 µL do sobrenadante que foi neutralizada em 940 µL de tampão borato (pH 10,2) e aos quais se adicionaram 10 µL de padrão interno (norvalina, 2 mg/mL). A mistura foi centrifugada (10 min, 13 000 rpm) e transferida para um vial de injeção. As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em g/100 g de amostra.

- Aminoácidos livres

Pesou-se rigorosamente cerca de 1 g de amostra para tubos falcon, aos quais se adicionaram 20 mL (amostra BB, L e V) ou 30 mL (amostra BA) de água desionizada. A extração foi efetuada em vortex durante 20 min a 4500 rpm, seguida, de centrifugação durante 10 min a 5000 rpm. O sobrenadante foi recolhido e retirou-se uma alíquota de 990 µL que foi filtrada com filtro de seringa PTFE, para um vial de injeção ao qual se adicionaram 10 µL de padrão interno (norvalina, 2 mg/mL). As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em g/100 g amostra.

- Análise cromatográfica dos aminoácidos totais e livres

O teor em aminoácidos foi determinado por RP-HPLC (Cromatografia Líquida em Fase Reversa), utilizando um sistema integrado da Jasco (Jasco, Tóquio, Japão) equipado com duas bombas de alta pressão (PU-980), um injetor automático (AS-4150), um detetor de fluorescência (FP-2020 Plus) e um detetor de absorção UV/Vis (MD-2015 Plus). As amostras (extratos de aminoácidos totais e livres) foram derivatizadas de forma automática com o-ftalaldeído (OPA) e 9-fluorenilmetoxicarbonil (FMOC) como descrito por Machado *et al.* (2020). Os compostos foram separados numa coluna Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 (5 µm, 4,6 x 250 mm, EUA), utilizando-se um sistema de gradiente com dois eluentes: A) hidrogenofosfato dissódico 10 mM/tetraborato de sódio 10 mM/azida de sódio 5 mM (pH 8,2); B) acetonitrilo/metanol/água (45:45:10) (Henderson & Brooks, 2010). Os dados cromatográficos foram analisados com o software JASCO-ChromNAV (versão 2.02.08, Jasco, Tóquio, Japão). Os aminoácidos foram identificados com base no tempo de retenção dos respetivos padrões. A quantificação de cada aminoácido foi baseada na resposta do sinal de fluorescência de cada padrão, convertido em unidades de concentração através de curvas de calibração de cada composto, utilizando o método do padrão interno.

Determinação da gordura total

O teor de gordura total foi determinado pelo método de Soxhlet (AOAC 991.36, 2012). Assim, pesaram-se rigorosamente cerca de 5 g de amostra, à qual se adicionou uma quantidade de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) suficiente para absorção da humidade, e areia para permitir a passagem do solvente sem colmatar. Esta mistura foi colocada em cartucho de celulose e, de seguida, colocado em ampola de extração do dispositivo de Soxhlet. A extração da gordura foi efetuada a quente, com éter de petróleo, durante 8 horas, para balão de destilação de fundo chato, previamente tarado e identificado. Uma vez terminada a extração, após recuperação da maioria do solvente, procedeu-se à secagem da gordura extraída e evaporação do solvente remanescente, em estufa a 100 °C. De seguida foram arrefecidos em exsiccador e pesados e regressaram à estufa por períodos de 30 minutos até obtenção de massa constante. As análises foram feitas em triplicado e os resultados apresentados em g/100 g de amostra expresso em peso seco.

Para ter maior conhecimento do tipo de gordura fornecido pelas amostras procedeu-se à análise do perfil de vitamina E e da composição em ácidos gordos.

- Vitamina E

A determinação do perfil de vitamina E fez-se a partir de gordura extraída pelo método de Soxhlet (AOAC 991.36, 2012) durante 4 h com n-hexano. Para a identificação dos compostos individuais prepararam-se soluções padrão em n-hexano dos seguintes vitâmeros: α , β , γ , δ - tocoferol e α , β , γ , δ - tocotrienol. Cada uma destas soluções continha 50 μ L de tocol, padrão interno (PI, 100 μ g/mL).

- Extração da fração lipídica

Na preparação das amostras para análise, preparou-se uma quantidade de amostra suficiente para obter 20 mg de gordura e adicionaram-se 50 μ L de tocol (100 μ g/mL) e 75 μ L de antioxidante BHT (0,1%) no cartucho de celulose. Após 4 h de extração da gordura pelo método de Soxhlet com n-hexano, recolheu-se a gordura dos balões para vials âmbar de 4 mL, previamente lavados com 2x 500 μ L de n-hexano (HPLC) e secos em corrente de azoto e pesados até peso constante. Adicionou-se 1 mL de n-hexano (HPLC) aos vials, agitou-se e transferiu-se para *ependorfs* de 2 mL âmbar. Os *ependorfs* foram centrifugados a 13 000 rpm, durante 5 min e 800 μ L do sobrenadante foram transferidos para um vial de injeção de 2 mL âmbar (Araújo *et al.*, 2015). As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em mg/kg de amostra.

A análise cromatográfica foi realizada num sistema de HPLC equipado com um detetor de matriz de díodos de vários comprimentos de onda (MD-2015) acoplado a um detetor de fluorescência (FP-2020).

A separação cromatográfica foi efetuada numa coluna de fase normal Supelcosil LC-SI (3 μ m; 75 mm \times 3,0 mm; Supelco, Bellefonte, EUA), à temperatura ambiente (21 °C). Utilizou-se como eluente uma mistura de n-hexano e 1,4-dioxano (98:2), a um fluxo de 0,7 mL/minuto (Araújo *et al.*, 2015). Os compostos foram identificados com base nos seus espetros e tempos de retenção, comparativamente aos dos padrões. A quantificação foi efetuada pelo método do padrão interno, usando os cromatogramas obtidos com o detetor de fluorescência ($\lambda_{\text{excitação}} = 290$ nm; $\lambda_{\text{emissão}} = 330$ nm).

- Perfil de ácidos gordos por GC-FID

A determinação da composição em ácidos gordos (AG) utilizou gordura extraída pelo método descrito para a determinação da vitamina E e a análise decorreu por cromatografia gasosa com deteção por ionização de chama (GC-FID).

A derivatização dos ácidos gordos em ésteres metílicos (FAME) foi efetuada de acordo com a ISO 12966-2: 2011 (ISO & STANDARD, 2010). O processo de saponificação dos lípidos fez-se em meio alcalino e a metilação deu-se na presença de um catalisador, o trifluoreto de boro (BF_3 14% em metanol, solução comercial) e por ação do calor. Adicionaram-se 75 μL de antioxidante (BHT 0,1%) de acordo com Nunes *et al.*, 2018. Dissolveu-se a amostra em 2 mL de diclorometano, adicionaram-se 1,5 mL de solução metanólica de hidróxido de potássio 0,5 M e a mistura foi aquecida na estufa a 100 °C, durante 10 min. Depois de arrefecer em gelo, durante 5 minutos, adicionaram-se 2 mL de trifluoreto de boro (BF_3) à solução aquosa, sendo colocada na estufa novamente a 100 °C, durante 30 min. Logo depois do arrefecimento, adicionaram-se 2 mL de água desionizada e 4 mL de n-hexano. As amostras foram agitadas em vortex e centrifugadas a 3000 rpm, durante 5 min, para separação das fases aquosa e orgânica. Após repouso, o sobrenadante foi transferido para um vial de 4 mL com um pouco de Na_2SO_4 anidro, para retirar vestígios de água. De seguida, a fase orgânica foi transferida para um vial de injeção de 2 mL e efetuada a análise cromatográfica.

O equipamento usado para a separação foi um cromatógrafo de gases GC-2010 Plus (Shimadzu, Tóquio, Japão), com um amostrador automático e um injetor automático (AOC-20i Shimadzu) com *split* 50:1 a 250 °C (injeção); uma coluna capilar de sílica CP-Sil 88, 50,0 m x 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 μm de espessura de filme (Varian, Middelburg, Holanda) e um detetor de ionização de chama (Shimadzu, Tóquio, Japão) a 270 °C. O gás de arraste utilizado foi o hélio (3,0 mL/min) e o programa de temperatura usado foi: 120 °C durante 5 min, 2 °C/min a 160 °C durante 2 min e 2 °C/min a 220 °C durante 10 min. O volume de injeção foi de 1,0 μL . Os ésteres metílicos de AG foram identificados por comparação com uma mistura padrão (FAME 37, Supelco, Bellefonte, PA, EUA). Os dados foram analisados com base em áreas de pico relativas. As análises foram realizadas em triplicado e os resultados dos AG foram expressos em percentagem relativa (%).

Determinação dos hidratos de carbono

O teor de hidratos de carbono disponíveis foi obtido por diferença dos restantes parâmetros químicos das amostras, de acordo com a seguinte equação (Tontisirin, 2003):

% Hidratos de Carbono disponíveis = 100% - (% Proteínas + % Gordura + % Cinzas + % Fibra total + % Açúcares livres)

Os resultados foram apresentados em g/100 g de amostra em peso seco.

Para aprofundar o conhecimento da composição nestes componentes procedeu-se à determinação da fibra total e dos açúcares livres.

- Determinação do teor de fibra total

O teor total de fibra das amostras em estudo foi determinado usando um método enzimático e gravimétrico (AOAC 985.29,2012).

O método consiste na digestão enzimática das amostras, com teores de gordura inferiores a 10%, em quadruplicado e dos brancos em duplicado.

A uma massa rigorosa de amostra foram adicionados 50 mL de tampão fosfato e 100 uL α -amilase, seguindo-se uma agitação durante 20 minutos, a 95 °C, de forma a hidrolisar o amido da amostra. Posteriormente, a solução foi alcalinizada com NaOH (0,275 M) de forma a garantir que o pH da solução era a ideal ($7,5 \pm 0,2$) para a segunda digestão com uma protease. A hidrólise das proteínas foi efetuada durante 35 minutos a 60 °C. Para a digestão com a amiloglicosidase o meio teve que ser acidificado com HCl (0,325 M) de forma a hidrolisar a amilose durante 35 minutos a 60 °C.

Em seguida a fibra solúvel foi precipitada com a adição de 200 ml de etanol a 96%.

Posteriormente as amostras foram filtradas em unidade de filtração, com lavagens sucessivas com etanol a 78%, 96% e por fim com acetona.

Os cadinhos com o resíduo proveniente da filtração foram colocados em estufa a 105 °C durante a noite. Seguiu-se o seu arrefecimento em exsiccador e pesagem para determinar a massa do resíduo. Das quatro amostras digeridas, 2 amostras e um branco foram incineradas a 525 °C durante 5 horas, e as outras duas amostras e o duplicado do branco foram submetidos a uma digestão ácida para a determinação da proteína. O teor de fibra total (FT) referente à matéria seca foi calculado de acordo com a seguinte expressão:

$$FT (\%) = (\text{massa do resíduo} - \text{proteína} - \text{cinza} - \text{branco}) \times 100$$

- Determinação de açúcares livres

As amostras neste ensaio foram preparadas com amostra liofilizada e água ultrapura, em triplicado.

Para a amostra BA pesou-se rigorosamente 1 g de amostra para tubos Falcon de 50 mL e adicionaram-se 30 mL de água. Para as restantes amostras pesou-se 1 g e adicionaram-se 20 mL de água.

Após agitação em vortex durante 20 minutos a 4500 rpm, as amostras foram centrifugadas e transferido 1 mL do sobrenadante para vial de injeção. As análises foram efetuadas em triplicado e os resultados expressos em g/100 g de amostra.

A análise cromatográfica foi realizada num sistema integrado de HPLC equipado com um detetor evaporativo com espalhamento de luz (ELSD), duas bombas de alta pressão e um injetor automático. Os compostos foram separados numa coluna Shodex Asahipak NH2P-50 4E (4,6mm I.D. x 250mm), utilizando um sistema isocrático com dois eluentes: A) água (25%); B) acetonitrilo (75%). As amostras foram eluídas a um fluxo de 0,5 mL/min, durante 20 minutos, à temperatura de 30 °C.

Os dados cromatográficos foram analisados com o software JASCO-ChromNAV (versão 2.02.08, Jasco, Tóquio, Japão). Os açúcares foram identificados com base no tempo de retenção dos respetivos padrões e quantificados através de curvas de calibração obtidas para cada composto.

3.6. Determinação de compostos bioativos e atividade antioxidante

Preparação dos extratos

O teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante (inibição do DPPH• e FRAP) foram determinados por métodos espectrofotométricos (Costa *et al.*, 2014). Na extração dos compostos bioativos usaram-se 3 tipos de solventes: água a 100%, água/etanol (1:1) e etanol a 100%. Além desses diferentes solventes testaram-se também várias relações massa de cladódio / volume de solvente, para assim determinar as melhores condições de extração. A otimização das condições para os compostos fenólicos totais usou a amostra laranja de Olaia. Foram testados 0,5 g, 0,25 g e 0,125 g de amostra liofilizada em 50 ml de solvente. As diferentes extrações decorreram durante 1h, a 40 °C, em placa de aquecimento com agitação constante a 600 rpm (figura 6) e os extratos obtidos filtrados e congelados a -20 °C, para posterior análise.



Figura 6 - Extratos aquosos, hidroalcoólicos (1:1) e etanólicos da variedade laranja utilizados para a otimização da extração.

Compostos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi determinado por um método espectrofotométrico com o reagente Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton *et al.* com ligeiras modificações (Costa *et al.*, 2014). Em microplaca, colocaram-se 30 μL do extrato, aos quais se adicionaram 150 μL do reagente Folin-Ciocalteu (1:10) e 120 μL de solução de $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (7,5% m/v). A mistura foi incubada a 45 °C, durante 15 minutos e após 30 minutos em temperatura ambiente, as leituras de absorvência foram realizadas a 765 nm, utilizando um leitor de microplacas. Para obter uma correlação entre a absorvência da amostra e a concentração do padrão (5-100 mg/L), utilizou-se uma curva de calibração de ácido gálico. As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em mg EAG/100 g de amostra.

Flavonoides totais

O teor de flavonoides totais (TFT) foi determinado de acordo com Costa *et al.*, 2014. Misturaram-se 1 mL de extrato com 4 mL de água desionizada e 300 μL de nitrito de sódio a 25%. Após 5 min à temperatura ambiente, foram adicionados 300 μL de AlCl_3 a 10% e 1 min após 2 mL de hidróxido de sódio (1 M) e 2,5 mL de água desionizada. A solução foi agitada em vortex. A absorvência foi lida a 510 nm em leitor de placas. Recorrendo a uma curva de calibração de catequina (2,5-400 mg/L) foi calculado o teor de flavonoides totais. As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em mg EC/100 g de amostra.

Determinação da atividade antioxidante pela inibição do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo)

A capacidade de eliminação do radical DPPH• dos extratos foi analisada de acordo com o método descrito por Costa *et al.*, 2014. Foram misturados 30 µL de extrato com 270 µL de uma solução de DPPH•, preparada na altura (6×10^{-5} mol/L em etanol) e as leituras foram efetuadas a 525 nm em leitor de microplacas. A diminuição do DPPH• foi medida em intervalos de 2 minutos, até a reação estabilizar. O ponto final da reação foi atingido aos 20 minutos. A curva de calibração foi preparada com uma solução padrão de trolox (5,62-175,34 mg/L). As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em mg ET/100 g de amostra.

Determinação da atividade antioxidante por redução do ião férrico (FRAP)

A atividade antioxidante pelo método FRAP foi avaliada de acordo com o método previamente descrita por Benzie e Strain (1996), com ligeiras modificações de Costa *et al.*, 2014. A 30 µL de extrato foram adicionados 270 µL de reagente de FRAP (tampão acetato 0,3 M, solução TPTZ 10 mM e cloreto férrico 20 mM). A mistura foi mantida por 30 min a 37 °C, protegida da luz. A absorvência foi medida a 595 nm em leitor de microplacas e os resultados obtidos através de uma curva de calibração com sulfato ferroso (25-500 mg/L). As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em mg ESF/100 g de amostra.

4. Análise Estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada com o IBM SPSS Statistics (versão 26 para Windows, IBM Corp., Armonk, 241 NY, EUA). A ANOVA unidirecional foi utilizada para avaliar diferenças significativas entre as amostras, seguida pelo HSD de Tukey para fazer comparações emparelhadas entre médias com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

5. Resultados e Discussão

5.1. Parâmetros biométricos

Procedeu-se ao registo dos parâmetros biométricos (comprimento, largura, espessura e peso) dos cladódios, estando os resultados resumidos na Tabela 2.

Tabela 2 - Dados biométricos das diferentes variedades de cladódios

Amostra	n	Comprimento (cm)	Largura (cm)	Espessura (cm)	Peso (g)
BA	6	35,37 ± 3,32	14,65 ± 1,59	1,60 ± 0,52	869,28 ± 191,76
BB	5	40,00 ± 2,55	13,36 ± 0,68	1,10 ± 0,14	741,38 ± 157,88
L	4	36,10 ± 3,38	18,70 ± 2,33	1,62 ± 5,29	1224,25 ± 349,56
V	6	35,18 ± 3,39	18,25 ± 2,03	1,11 ± 7,12	948,48 ± 176,35

BA – branca do Arrepiado, BB – branca da Barquinha, L – Laranja de Olaia, V – vermelha de Olaia.

O comprimento variou entre 35 e 40 cm, sendo semelhante em 3 variedades (BA, L e V). A variedade BB é a que mais difere de todas. Nos valores de largura os cladódios agrupam-se 2 a 2; as brancas com valores inferiores, relativamente às L e V. Quanto à espessura também se agrupam de 2 a 2, mas de modo diferente (BA e L; BB e V). Relativamente ao peso, a variedade L é a que apresenta um valor médio superior às restantes.

5.2. Análise nutricional

A composição nutricional das diferentes variedades de cladódios estudados é apresentada na tabela 3 e 4. Em ambas as tabelas estão referenciados trabalhos reportados na literatura, permitindo fazer a discussão e comparação dos resultados obtidos. A tabela 3 apresenta os valores da humidade, cinzas, proteína e gordura. Na tabela 4 apresentam-se os resultados obtidos de fibra total e hidratos de carbono disponíveis entre os quais a composição dos açúcares simples.

Tabela 3 - Composição nutricional (humidade, cinzas, proteína e gordura) de quatro variedades de cladódios da *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller

Parâmetro nutricional	Variedade de cladódios analisados				Cladódios	Referência
	BA	BB	L	V		
Humidade (%)	92,76 ± 0,76 ^b	94,33 ± 0,20 ^a	91,03 ± 0,11 ^d	92,05 ± 0,11 ^c	90,67 ± 0,75	(Ayadi <i>et al.</i> , 2009)
					93,6 - 94,6	(Mendez <i>et al.</i> , 2015)
					94,95 ± 1,39	(Hernández-Urbiola <i>et al.</i> , 2010)
					92,33 ± 1,36	(Rocchetti <i>et al.</i> , 2018)
Cinzas	17,21 ± 0,22 ^c	20,35 ± 0,15 ^b	26,99 ± 0,72 ^a	20,70 ± 0,04 ^b	25,65 ± 0,94	(Ayadi <i>et al.</i> , 2009)
					21,35 ± 1,86	(Hernández-Urbiola <i>et al.</i> , 2010)
					17,19 - 18,42	(Mendez <i>et al.</i> , 2015)
					6,52	(Rocchetti <i>et al.</i> , 2018)
					18,57 ± 7,22	(Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010)
14,4 ± 0,38	(Astello-García <i>et al.</i> , 2015)					
Proteína	4,90 ± 0,37 ^{ab}	7,62 ± 0,77 ^a	4,14 ± 0,37 ^b	3,48 ± 0,36 ^b	8,74 ± 0,51	(Ayadi <i>et al.</i> , 2009)
					7,81 ± 0,99	(Hernández-Urbiola <i>et al.</i> , 2010)
					7,56	(Rocchetti <i>et al.</i> , 2018)
					3,91 - 5,97	(Mendez <i>et al.</i> , 2015)
					13,06 ± 4,31	(Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010)
11,2 ± 1,68	(Astello-García <i>et al.</i> , 2015)					
Gordura	1,17 ± 0,03 ^a	1,24 ± 0,02 ^a	1,30 ± 0,01 ^a	1,73 ± 0,33 ^a	3,95 ± 0,22	(Ayadi <i>et al.</i> , 2009)
					1,83 ± 0,36	(Hernández-Urbiola <i>et al.</i> , 2010)
					1,56 ± 0,02	(Rocchetti <i>et al.</i> , 2018)
					0,74 ± 0,68	(Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010)
					0,91 ± 0,23	(Astello-García <i>et al.</i> , 2015)

Os valores estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Os valores que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes (P <0,05), determinados por ANOVA seguida pelo teste Tukey HSD. Resultados expressos em g/100 g de peso seco.

BA – branca do Arrepiado, BB – branca da Barquinha, L – Laranja de Olaia, V – vermelha de Olaia

Tabela 4- Composição nutricional (Fibra total, açúcares livres e restantes hidratos de carbono) de quatro variedades de cladódios da *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller

Parâmetro nutricional	Variedade de cladódios analisados				Cladódios	Referência
	BA	BB	L	V		
Fibra total	40,00 ± 1,11 ^a	26,45 ± 0,02 ^b	35,61 ± 1,36 ^a	22,95 ± 0,23 ^b	30,92	(Ayadi <i>et al.</i> , 2009)
					43,86 - 45,31	(Mendez <i>et al.</i> , 2015)
					44,42	(Rocchetti <i>et al.</i> , 2018)
					15,54 ± 14,44	(Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010)
Açúcares livres	17,15 ± 0,52 ^b	11,39 ± 0,35 ^d	19,48 ± 0,90 ^a	14,87 ± 0,19 ^c	2,49 ± 0,95	(Ayadi <i>et al.</i> , 2009)
Frutose	8,56 ± 0,26 ^{b,c}	6,17 ± 0,20 ^a	9,02 ± 0,44 ^c	7,75 ± 0,07 ^b		
Glucose	6,50 ± 0,20 ^c	3,14 ± 0,08 ^a	7,41 ± 0,33 ^d	5,30 ± 0,09 ^a		
Sacarose	2,09 ± 0,20 ^b	2,09 ± 0,08 ^b	3,05 ± 0,33 ^a	1,82 ± 0,09 ^c		
Restantes hidratos de carbono	19,37 ± 1,63 ^b	33,36 ± 0,26 ^a	13,59 ± 0,70 ^c	36,43 ± 0,48 ^a	29,44	(Ayadi <i>et al.</i> , 2009)
					39,76	(Rocchetti <i>et al.</i> , 2018)
					57,87 ± 18,49	(Guevara-Figueroa <i>et al.</i> , 2010)

Os valores correspondem à média ± desvio padrão (n=3). Os valores que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes (P <0,05), determinados por ANOVA seguida pelo teste Tukey HSD. Resultados apresentados em g/100 g de peso.

BA – branca do Arrepiado, BB – branca da Barquinha, L – Laranja de Olaia, V – vermelha de Olaia.

Os cladódios das diferentes variedades revelam teores elevados de água, na ordem dos 90%, o que os torna uma fonte de hidratação considerável. Esta situação responde à falta de água das regiões áridas e semiáridas onde habitualmente a planta surge espontaneamente. O valor de humidade estimado está de acordo com os todos os estudos reportados na referida tabela. Embora dentro da mesma gama os valores de humidade determinados diferem entre as amostras (Tabela 3).

Relativamente ao teor de cinzas, todas as amostras apresentam teores elevados (entre 17 e 27 g/100 g). Salienta-se que a amostra com o teor mais baixo de humidade é a que apresenta teores mais alto de cinzas (amostra L). Comparando os resultados obtidos com as referências descritas na tabela, de 6 apenas 2 descrevem valores inferiores aos determinados neste trabalho (Rochetti *et al.* e Astello-Garcia *et al.*). As diferenças aqui detetadas podem dever-se à diferente origem ou grau de maturação.

Os teores de proteína variaram entre 3,5 e 7,6 g/100 g. A amostra BB é a que apresenta os teores mais elevados e consideravelmente diferentes das restantes. Coincidentemente esta amostra é a que apresenta os teores mais elevados de água. Relativamente às referências encontradas na bibliografia, os valores que mais se afastam dos determinados são os reportados por Astello-Garcia *et al.* e Guevara-Figueroa *et al.* Mais uma vez estas diferenças podem dever-se à idade dos cladódios, mas também às condições edafoclimáticas a que a planta está sujeita.

Relativamente aos teores de gordura, estes variam entre 1,2 e 1,7 g/100 g, sem diferenças significativas entre as amostras. Também as referências bibliográficas da tabela reportam valores da mesma ordem de grandeza, à exceção de Ayadi *et al.*, que reporta valores aproximadamente o dobro dos valores determinados no trabalho que se apresenta.

Os teores de hidratos de carbono (Tabela 4) incluem os teores de fibra total, os açúcares livres e os açúcares mais complexos que funcionam como reserva da planta. Estes últimos apresentam valores que variam entre 13,6 e 36,4 g/100 g. As amostras BB e V são as que apresentam valores mais elevados, similares, sendo as plantas com maior reserva de hidratos de carbono. 3 referências bibliográficas avaliaram este parâmetro e apenas 1 (Ayadi *et al.*) descreve um valor dentro da gama dos determinados neste trabalho. Os outros 2 trabalhos reportam valores superiores.

Relativamente aos teores de fibra total, que varia entre 23 e 40 g/100 g, permitem verificar que os cladódios são uma fonte interessante de fibra, um componente tão procurado

nas dietas atuais. Estes valores estão de acordo com as recomendações atuais do Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável da Direção-Geral da Saúde, que se situam nos 25 g/dia (<https://alimentacaosaudavel.dgs.pt/nutriente/fibra/>, consultado a 13 de maio de 2020). Também neste parâmetro as amostras BB e V são as mais pobres, mas mesmo assim com teores de 26 e 23%, respetivamente. Relativamente a publicações com a determinação deste parâmetro, a tabela 4 apresenta 2 com valores superiores aos obtidos, um com valores inferiores e uma com valores similares (Ayadi *et al.*). Méndez *et al.*, 2015 comparou cladódios de diferentes espécies de *O. ficus-indica* que dão frutos com diferentes cores de polpa; os cladódios que dão frutos de polpa verde apresentaram um maior teor de fibra total (45,3 g/100 g p.s.) do que os que dão frutos de polpa laranja (43,9 g/100 g p.s.). Estes valores são superiores aos determinados no trabalho que se apresenta. Os referidos autores verificaram também que esses cladódios de frutos de polpa laranja tinham teores de proteína superiores (5,97 g/100 g p.s.), o que também não aconteceu com as amostras em estudo.

Os açúcares simples, que fornecem doçura ao cladódio, estão presentes em todas as amostras, embora em teores variáveis (desde 11,4 g/100 g p.s. na amostra BB até 19,5 g/100 g p.s. na L). O mais abundante em todas as amostras é a frutose, seguindo-se a glucose em valores ligeiramente inferiores, e por fim, a sacarose com valores que variam entre 1,8 e 3,1.

Apenas foi possível encontrar um estudo que reporta os teores de açúcares livres (Ayadi *et al.* 2009). Este trabalho descreve um estudo com cladódios (2-3 anos) de *O. ficus-indica* f. *amyloceae* e *O. ficus-indica* f. *inermis*, da região da Tunísia, Mediterrâneo. Os valores descritos são muito inferiores aos determinados nas amostras em estudo (Tabela 4).

Numa visão global, a planta está perfeitamente adaptada às regiões áridas, fornecendo aos habitantes, animais e pessoas, água e minerais para manter a hidratação. Os teores de proteína deverão colaborar no processo de retenção da água. Os açúcares livres podem funcionar como uma fonte imediata de energia e a fibra total pode ser responsável pela saciedade (Rebello, O'Neil & Greenway, 2016)

As diferenças nutricionais existentes entre as amostras analisadas e os resultados encontrados nos diferentes estudos podem estar relacionado com a idade dos cladódios, mas também com as condições edafoclimáticas a que a planta está sujeita.

5.3. Composição em aminoácidos

Aminoácidos totais

A tabela 5 apresenta os teores de aminoácidos totais das quatro variedades de cladódios em estudo. Foram determinados 18 aminoácidos, nove dos quais essenciais. Este facto merece uma referência especial, pois o consumo desta planta permite obter estes aminoácidos, que o organismo não consegue sintetizar e, portanto, têm de ser fornecidos pela dieta (Wu, 2009). Este é um fator de qualidade da proteína, apesar de esta não estar presente em grandes quantidades, como referido anteriormente.

Tabela 5 - Teor de aminoácidos totais dos cladódios.

Aminoácidos	Variedade de cladódios analisados			
	BA	BB	L	V
Ácido aspártico	0,46 ± 0,00 ^b	0,66 ± 0,00 ^a	0,29 ± 0,00 ^d	0,39 ± 0,00 ^c
Ácido glutâmico	0,52 ± 0,01 ^b	0,76 ± 0,00 ^a	0,38 ± 0,00 ^d	0,44 ± 0,00 ^c
Serina	0,23 ± 0,00 ^b	0,33 ± 0,00 ^a	0,16 ± 0,00 ^d	0,21 ± 0,00 ^c
Histidina ¹	0,09 ± 0,00 ^b	0,14 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^d	0,08 ± 0,00 ^c
Glicina	0,20 ± 0,02 ^b	0,27 ± 0,01 ^a	0,10 ± 0,00 ^d	0,15 ± 0,00 ^c
Treonina ¹	0,20 ± 0,01 ^b	0,28 ± 0,00 ^a	0,13 ± 0,00 ^d	0,18 ± 0,00 ^c
Arginina	0,25 ± 0,00 ^b	0,39 ± 0,00 ^a	0,17 ± 0,00 ^d	0,23 ± 0,00 ^c
Alanina	0,25 ± 0,01 ^b	0,36 ± 0,00 ^a	0,16 ± 0,00 ^d	0,22 ± 0,00 ^c
Tirosina	0,09 ± 0,00 ^b	0,15 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^c	0,08 ± 0,00 ^b
Valina ¹	0,20 ± 0,01 ^b	0,29 ± 0,00 ^a	0,12 ± 0,00 ^d	0,18 ± 0,00 ^c
Metionina ¹	0,05 ± 0,03 ^b	0,08 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^c	0,06 ± 0,00 ^b
Triptofano ¹	0,05 ± 0,00 ^b	0,07 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^c	0,05 ± 0,00 ^b
Fenilalanina ¹	0,16 ± 0,01 ^b	0,23 ± 0,00 ^a	0,09 ± 0,00 ^d	0,13 ± 0,00 ^c
Isoleucina ¹	0,16 ± 0,01 ^b	0,23 ± 0,00 ^a	0,10 ± 0,00 ^c	0,15 ± 0,00 ^b
Leucina ¹	0,27 ± 0,01 ^b	0,41 ± 0,00 ^a	0,15 ± 0,00 ^d	0,23 ± 0,00 ^c
Lisina ¹	0,31 ± 0,05 ^b	0,39 ± 0,00 ^a	0,14 ± 0,01 ^d	0,21 ± 0,01 ^c
Hidroxiprolina	0,02 ± 0,00 ^c	0,03 ± 0,00 ^b	0,02 ± 0,00 ^c	0,03 ± 0,00 ^a
Prolina	0,13 ± 0,01 ^b	0,20 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^d	0,11 ± 0,00 ^c
ΣAAT	3,63 ± 0,08	5,25 ± 0,03	2,22 ± 0,03	3,01 ± 0,01
ΣAAE	1,45 ± 0,05	2,08 ± 0,01	0,86 ± 0,02	1,26 ± 0,02
ΣAANE	2,17 ± 0,04	3,18 ± 0,02	1,36 ± 0,02	1,75 ± 0,01

¹Aminoácidos essenciais. Resultados expressos em g/100 g de peso seco. na forma de média ± desvio padrão (n=4). Os valores que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes (P <0,05), determinados por ANOVA seguida pelo teste Tukey HSD. ΣAAT – somatório de aminoácidos totais, ΣAAE – somatório de aminoácidos essenciais, ΣAANE – somatório de aminoácidos não essenciais.

BA – branca do Arrepiado, BB – branca da Barquinha, L – Laranja de Olaia, V – vermelha de Olaia,

O teor de AAE é de 40% nas variedades de cladódios de frutos de polpa branca, 39% nos de polpa laranja e de 42% nos de polpa vermelha. Este teor é outra qualidade desta planta, por fornecer também aminoácidos essenciais ao organismo.

Todas as amostras apresentaram como aminoácidos maioritários os ácidos glutâmico (0,38- 0,76 g/100 g) e aspártico (0,29-0,66 g/100 g). Para além dos aminoácidos já mencionados, foram também, identificados em todas as variedades serina, glicina, arginina, alanina, tirosina, hidroxiprolina e prolina, além dos 9 AA essenciais. A presença de todos estes AA, nomeadamente os chamados aminoácidos funcionais (arginina, glutamina, leucina, prolina e triptofano) que regulam as principais vias metabólicas necessárias para a manutenção, crescimento, reprodução e imunidade, sugere a sua utilização como suplemento alimentar para melhorar problemas de saúde (Wu, 2009).

Todas as amostras apresentam também valores relevantes de Lisina. A presença da lisina poderá ser bastante benéfica para a valorização dos cladódios, pois este é um AA essencial e limitante em vários alimentos. Além disso, segundo Wu (2009) a lisina é um AA com atividade antiviral (herpes), o que pode ser uma opção como ingrediente na formulação desse tipo de suplementos alimentares.

O teor de AAT variou entre 2,22 e 5,25 g/100 g e o teor de AAE entre 0,86 e 2,10 g/100 g. No entanto, comparando o teor de proteína bruta apresentado na tabela 3 (BA 4,9; BB 7,6; L 4,1; e V 3,5 g/100 g) com os resultados obtidos de AAT (tabela 5) verifica-se que o valor de proteína bruta está sobrevalorizado. Isto poderá significar a presença de outros AA não identificados, por falta de padrões, ou estarem presentes nas amostras compostos com azoto não proteico, como por exemplo nitratos.

Embora não existam muitos estudos sobre o perfil de aminoácidos totais, Hernández-Urbiola *et al.* (2010) avaliaram a influência do estado de maturação dos cladódios na composição em aminoácidos. Verificaram que o AA com maior representatividade era o ácido glutâmico, o que vem corroborar os resultados obtidos para as quatro variedades de cladódios analisados. Os autores identificaram também como AA maioritários a treonina e fenilalanina, o que não se verificou no estudo apresentado. O teor de ácido glutâmico era superior nos cladódios com 125 dias; a treonina apresentava o seu teor máximo aos 50 dias; a fenilalanina era superior aos 40 dias. Pelo referido, perfis de AA diferentes podem estar relacionados com o estado de maturidade e as regiões de origem das amostras.

Aminoácidos livres

Tabela 6 - Teor de aminoácidos livres dos cladódios.

Aminoácidos	Variedade de cladódios analisadas				Cladódios ²
	BA	BB	L	V	
Ácido aspártico	0,056 ± 0,003 ^b	0,071 ± 0,004 ^a	0,014 ± 0,002 ^c	0,020 ± 0,000 ^c	0,018 - 0,042
Ácido glutâmico	0,038 ± 0,003 ^b	0,049 ± 0,003 ^a	0,016 ± 0,003 ^c	0,022 ± 0,000 ^c	0,022 - 0,052
Asparagina	0,008 ± 0,001 ^b	0,010 ± 0,001 ^a	0,005 ± 0,000 ^c	0,006 ± 0,000 ^c	0,013 - 0,030
Serina	0,016 ± 0,001 ^b	0,029 ± 0,002 ^a	0,012 ± 0,001 ^c	0,012 ± 0,000 ^c	0,027 - 0,064
Glutamina	0,040 ± 0,003 ^b	0,077 ± 0,005 ^a	0,012 ± 0,001 ^c	0,015 ± 0,000 ^c	0,144 - 0,346
Histidina ¹	0,002 ± 0,000 ^{a,b}	0,003 ± 0,000 ^a	0,001 ± 0,000 ^b	0,001 ± 0,000 ^b	0,017 - 0,040
Glicina	0,002 ± 0,000 ^b	0,003 ± 0,000 ^a	0,001 ± 0,000 ^c	0,001 ± 0,000 ^c	0,004 - 0,010
Treonina ¹	0,008 ± 0,001 ^a	0,009 ± 0,001 ^a	0,005 ± 0,000 ^b	0,006 ± 0,000 ^b	0,017 - 0,040
Arginina	0,011 ± 0,001 ^b	0,023 ± 0,002 ^a	0,011 ± 0,000 ^b	0,011 ± 0,000 ^b	0,020 - 0,048
Alanina	0,016 ± 0,001 ^a	0,018 ± 0,001 ^a	0,008 ± 0,001 ^b	0,011 ± 0,000 ^b	0,005 - 0,012
Tirosina	0,003 ± 0,001 ^{a,b}	0,005 ± 0,001 ^a	0,003 ± 0,000 ^b	0,004 ± 0,000 ^{a,b}	0,006 - 0,014
Valina ¹	0,016 ± 0,001 ^b	0,022 ± 0,002 ^a	0,009 ± 0,000 ^c	0,009 ± 0,000 ^c	0,031 - 0,074
Metionina ¹	0,006 ± 0,000 ^a	0,006 ± 0,000 ^a	0,004 ± 0,000 ^b	0,004 ± 0,000 ^b	0,012 - 0,028
Triptofano ¹	0,004 ± 0,000 ^b	0,003 ± 0,000 ^c	0,005 ± 0,000 ^a	0,003 ± 0,000 ^c	0,004 - 0,010
Fenilalanina ¹	0,007 ± 0,001 ^b	0,013 ± 0,001 ^a	0,006 ± 0,000 ^b	0,006 ± 0,000 ^b	0,014 - 0,034
Isoleucina ¹	0,004 ± 0,000 ^{a,b}	0,005 ± 0,000 ^a	0,003 ± 0,000 ^{b,c}	0,003 ± 0,000 ^c	0,016 - 0,038
Leucina ¹	0,009 ± 0,001 ^b	0,015 ± 0,002 ^a	0,008 ± 0,000 ^b	0,010 ± 0,001 ^b	0,011 - 0,026
Lisina ¹	0,013 ± 0,002 ^b	0,026 ± 0,002 ^a	0,010 ± 0,000 ^b	0,011 ± 0,000 ^b	0,021 - 0,050
Prolina	0,002 ± 0,000 ^b	0,004 ± 0,000 ^a	0,001 ± 0,000 ^c	0,002 ± 0,000 ^c	-
ΣAAT	0,262 ± 0,021	0,389 ± 0,028	0,134 ± 0,009	0,156 ± 0,003	0,399 - 0,958
ΣAAE	0,085 ± 0,007	0,142 ± 0,011	0,045 ± 0,001	0,051 ± 0,001	0,142 - 0,340
ΣAANE	0,177 ± 0,014	0,247 ± 0,017	0,088 ± 0,008	0,105 ± 0,002	0,258 - 0,618
Referência	(Brückner & Westhauser, 2003)				

¹Aminoácidos essenciais. ²Resultados modificados (Brückner & Westhauser, 2003). Resultados expressos em g/100 g de peso seco. Os valores estão apresentados na forma de média±desvio padrão (n=4). Os valores que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes (P <0,05), determinados por ANOVA seguida pelo teste Tukey HSD. ΣAAT – somatório de aminoácidos totais, ΣAAE – somatório de aminoácidos essenciais, ΣAANE – somatório de aminoácidos não essenciais. BA – branca do Arrepiado, BB – branca da barquinha, L – Laranja de Olaia, V – vermelha de Olaia.

A Tabela 6 mostra o perfil dos 19 AA livres determinados nas quatro variedades de cladódios. Em todas as amostras os principais aminoácidos são o ácido aspártico (0,014 –

0,071 g/100 g), o ácido glutâmico (0,016 – 0,049 g/100 g) e a glutamina (0,040 – 0,077 g/100 g). Todos os aminoácidos essenciais (histidina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, metionina, triptofano e valina) foram determinados na forma livre.

Apesar de existirem diferenças significativas ($p > 0.05$) os resultados obtidos sugerem que as variedades branca (BA e BB) têm maior proximidade de perfil, podendo ser um parâmetro de discriminação em relação às restantes. A amostra BB tem maior teor de AAT, seguida da BA. Os AAE revelaram o mesmo perfil, sendo as amostras BB e BA as que apresentam maiores teores.

5.4. Perfil de ácidos gordos

O perfil de ácidos gordos dá a conhecer o tipo de gordura fornecida pelos cladódios em estudo. Sabendo que não são produtos ricos em gordura, é importante saber o tipo de gordura que fornecem, quer para alimentação animal quer para a humana. De acordo com Andreu-Coll *et al.*, 2019, o principal uso dos cladódios adultos é a alimentação para animais. Estes autores determinaram o perfil de ácidos gordos em cladódios jovens e adultos, tendo identificado o ácido linoleico (C18:2), AG essencial, como o principal no perfil dos cladódios adultos. Verificaram ainda que os cladódios jovens tinham o ácido palmítico (C16:0), um AG saturado como o AG maioritário. Os cladódios adultos apresentaram maiores percentagens de ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados do que os jovens. Com o conhecimento fornecido por este parâmetro é possível avaliar o potencial dos cladódios adultos para alimentação humana, tendo em conta os estudos que evidenciam que o consumo de AGM e AGP tem benefícios para a saúde em todas as fases da vida e contribuem para melhorar as diferentes condições de saúde (Rodríguez-Cruz, Tovar, del Prado, & Torres, 2005).

Dezasseis ácidos gordos foram identificados (Tabela 7) nas amostras em estudo. Os AG maioritários são os ácidos linoleico (C18:2), palmítico (C16:0) e linolénico (C18:3), ou seja, incluiu como maioritários os AG essenciais, linoleico e linolénico. O ácido linoleico, sendo um AG n-6, é convertido em ácido araquidónico (C20:4) através de várias reações de dessaturação e alongação. Nesta cascata são produzidos eicosanoides, como as prostaglandinas e tromboxanos, compostos envolvidos nos processos inflamatórios (Calder *et al.*, 2019). A presença de ácido linolénico, um AG n-3, leva à produção de compostos

Tabela 7 - Perfil em ácidos gordos das diferentes variedades de cladódios.

Ácidos gordos	Variedade de cladódios analisados*				Cladódios*	
	BA	BB	L	V	Jovens	Adultos
Laurico (C12:0)	3,85 ± 0,06 ^a	0,79 ± 0,07 ^c	2,99 ± 0,28 ^a	2,01 ± 0,04 ^b	0,75 – 1,19	ND
Mirístico (C14:0)	7,16 ± 0,01 ^a	2,11 ± 0,13 ^b	5,64 ± 0,54 ^a	3,62 ± 0,07 ^b	1,33 – 3,17	ND
Palmítico (C16:0)	26,60 ± 0,80 ^a	24,73 ± 3,54 ^a	28,46 ± 3,12 ^a	22,21 ± 0,96 ^a	30,1 – 50,0	15,0 - 20,1
Palmitoleico (C16:1)	0,51 ± 0,04 ^{a,b}	0,31 ± 0,03 ^b	0,62 ± 0,04 ^{a,b}	0,70 ± 0,08 ^a	1,05 – 3,45	0.36
Margárico (C17:0)	1,09 ± 0,03 ^a	0,68 ± 0,09 ^b	0,99 ± 0,10 ^{a,b}	0,72 ± 0,02 ^{a,b}		
Esteárico (C18:0)	4,21 ± 0,33 ^a	3,47 ± 0,29 ^a	5,88 ± 0,89 ^a	5,13 ± 0,62 ^a	4,36 – 6,46	4,36 – 6,01
Oleico (C18:1n9c)	7,09 ± 0,14 ^b	9,42 ± 2,31 ^{a,b}	10,71 ± 1,14 ^{a,b}	16,87 ± 0,49 ^a	9,22 – 23,7	8,52 – 36,3
Vacénico (C18:1n7)	1,22 ± 0,04 ^a	1,13 ± 0,08 ^a	0,78 ± 0,03 ^b	0,78 ± 0,02 ^b		
Linoleico ¹ (C18:2n6c)	26,06 ± 0,57 ^a	26,83 ± 2,86 ^a	26,66 ± 4,20 ^a	28,09 ± 1,46 ^a	12,8 – 27,9	25,8 – 53,8
Araquídico (C20:0)	1,14 ± 0,04 ^a	0,74 ± 0,02 ^a	1,19 ± 0,15 ^a	1,14 ± 0,05 ^a	2.53 – 3,12	12,4 – 16,8
Linolénico ¹ (C18:3n3)	13,91 ± 0,95 ^b	26,32 ± 2,43 ^a	8,87 ± 1,06 ^b	13,41 ± 0,89 ^b	5,31 – 20,4	13,4 – 19,7
Cis-11-eicosanoico (C20:1n9)	0,21 ± 0,03 ^a	0,16 ± 0,00 ^a	0,32 ± 0,03 ^a	0,27 ± 0,04 ^a		
Henicosanoico (C21:0)	0,36 ± 0,02 ^a	0,21 ± 0,01 ^b	0,35 ± 0,04 ^a	0,24 ± 0,01 ^{a,b}		
Beénico (C22:0)	2,10 ± 0,13 ^a	1,37 ± 0,20 ^a	2,30 ± 0,47 ^a	1,99 ± 0,09 ^a		
Tricosanoico (C23:0)	1,17 ± 0,08 ^{a,b}	0,49 ± 0,06 ^c	1,26 ± 0,12 ^a	0,73 ± 0,01 ^{b,c}		
Lignocérico (C24:0)	3,32 ± 0,15 ^a	1,24 ± 0,16 ^c	2,99 ± 0,00 ^a	2,10 ± 0,09 ^b		
n6/n3	1,87	1,02	3,01	2,09		
ΣAGS	51,01 ± 1,34	35,82 ± 3,09	52,05 ± 4,07	39,88 ± 1,79	40,9 – 60,2	19,4 – 40,3
ΣAGM	9,01 ± 0,17	11,02 ± 2,20	12,42 ± 1,19	18,62 ± 0,56	10,8 – 25,7	8,52 – 36,3
ΣAGP	39,97 ± 1,52	53,15 ± 5,29	35,52 ± 5,26	41,50 ± 2,35	21,6 – 48,3	39,3 – 55,5
Referência					(Andreu-Coll <i>et al.</i> , 2019)	

Resultados expressos em % relativa do total de ácidos gordos. ¹Ácidos gordos essenciais. Os valores apresentam-se na forma de média ± desvio padrão (n=2). Os valores que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes (P <0,05), determinados por ANOVA seguida pelo teste Tukey HSD. BA – branca do Arrepiado, BB – branca da Barquinha, L – laranja de Olaia, V – vermelha de Olaia, ΣAGS – somatório dos ácidos gordos saturados (C12:0 + C14:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C20:0 + C21:0 + C22:0 + C23:0 + C24:0), ΣAGM – somatório dos ácidos gordos monoinsaturados (C16:1 + C18:1n9c+ C18:1n7+ C20:1n9), ΣAGP – somatório dos ácidos gordos polinsaturados (C18:2n6c + C18:3n3).ND – não detetado

com efeito anti-inflamatório. De referir que a relação n-6/n-3 apresentada pela gordura das amostras é adequada, variando entre 1 e 3.

Relativamente ao teor total de AGS verifica-se que as mais ricas neste tipo de AG são as amostras BA e L, com teores muito similares, comportamento também verificado nos teores de fibra e de açúcares livres. De referir que também apresentam teores similares de proteína. Todas estas semelhanças apontam para uma proximidade genética pois têm origens

diferentes (BA Arrepiado e L Olaia). Estas semelhanças já não são visíveis nos AGM e nos AGP.

Relativamente ao teor de AGP, as amostras BA e V têm valores médios similares, devido aos teores semelhantes de AG essenciais. No entanto a amostra mais rica nestes AG é a BB, amostra que contém teores similares dos 2 AG essenciais, na ordem de 26% cada. A amostra V é a mais rica em AGM, devido à presença de ácido oleico (C18:1) em teores da ordem de 17%.

O perfil de ácidos gordos é mais um parâmetro que confirma o potencial dos cladódios em estudo para alimentação, fornecendo os AG necessários ao organismo.

5.5. Perfil de Vitamina E

A Vitamina E é constituída por oito vitâmeros lipossolúveis, divididos em tocoferóis (α -, β -, γ - e δ -tocoferol) e tocotrienóis (α -, β -, γ - e δ -tocotrienol). Todos apresentam atividades biológicas específicas, mas é o α -tocoferol que apresenta maior ação vitamínica. Essa ação antioxidante nos vegetais evita a degradação da membrana celular e, conseqüentemente promove vantagens nutricionais, preservando assim as propriedades sensoriais (Batista, Costa, & Pinheiro-Sant'ana, 2007). O α -tocoferol é também o vitâmero com maior atividade biológica no organismo dos mamíferos (Pathak, Rai, Kumari, & Bhat, 2014). A determinação deste parâmetro visou aprofundar o conhecimento das amostras no que concerne o tipo de gordura que possuem. Os teores de Vitamina E também informam se os cladódios podem ser considerados boas fontes desta vitamina. A vitamina E está naturalmente presente em alimentos de origem vegetal, caso dos vegetais verde (Krinsky, Beecher, Burk, Chan, Erdman, Jacob *et al*, 2000).

A Tabela 8 apresenta o perfil de vitamina E das diferentes variedades de cladódios da *Opuntia ficus-índia* (L.) Miller. Pela tabela verifica-se que as amostras apresentam o mesmo perfil de vitâmeros (α -tocoferol e α -tocotrienol, β - e γ -tocoferóis) mas com valores totais diversos.

Relativamente ao teor total de Vitamina E, as amostras mais ricas são as BA e V, com teores da ordem dos 110mg/kg. De realçar que estas amostras são também as mais ricas em gordura (1,2 e 1,7 g/100 g).

A amostra L é a mais pobre em vitamina E e, coincidentemente, é também a amostra com teor inferior de AGP.

O total de vitamina E determinado nas amostras BA e V é semelhante ao descrito no trabalho de Lanuzza *et al.*, 2017 (119 mg/kg de liofilizado). Estes autores identificaram apenas

α , β e γ -tocoferóis. No estudo que se apresenta foi identificado α -tocotrienol em todas as variedades. Claramente os teores totais desta vitamina são influenciados pelos teores de α -tocoferol, o maioritário entre os 4 presentes.

Tabela 8 -- Perfil em vitamina E das quatro variedades de cladódios.

Vitámero*	Variedades de cladódios analisados ¹				Cladódios ¹
	BA*	BB*	L*	V*	
α -tocoferol	107,64 \pm 8,45 ^a	65,85 \pm 1,57 ^b	38,65 \pm 2,55 ^c	94,93 \pm 8,56 ^a	98,4 \pm 3,5
α -tocotrienol	0,56 \pm 0,02 ^{a, b}	0,67 \pm 0,09 ^a	0,37 \pm 0,03 ^b	0,53 \pm 0,08 ^{a, b}	
β -tocoferol	1,32 \pm 0,08 ^b	1,06 \pm 0,10 ^b	1,17 \pm 0,03 ^b	1,78 \pm 0,15 ^a	18,3 \pm 1,7
γ -tocoferol	3,50 \pm 0,13 ^c	7,84 \pm 0,57 ^b	7,14 \pm 0,24 ^b	11,28 \pm 0,91 ^a	2,33 \pm 0,9
Vitamina E Total	112,83 \pm 8,92 ^a	75,42 \pm 2,15 ^b	47,34 \pm 2,80 ^c	108,11 \pm 7,73 ^a	119
Referência	(Lanuzza <i>et al.</i> , 2017)				

¹Resultados expressos em mg/kg de liofilizado *Os valores são apresentados como média \pm desvio padrão (n=3). Os valores que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes (P <0,05), determinados por ANOVA seguida pelo teste Tukey HSD. BA – branca do Arrepiado, BB – branca da barquinha, L – Laranja de Olaia, V – vermelha de Olaia.

5.6. Compostos bioativos e atividade antioxidante

De acordo com o processo de otimização descrito anteriormente, a extração mais eficiente ocorreu com água/etanol (1:1) e 125 mg de amostra liofilizada em 50 ml de solvente (Figuras 7 a 9). Verificaram-se diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as massas de 0,5 g e 0,125 g e as massas 0,25 g e 0,125 g.

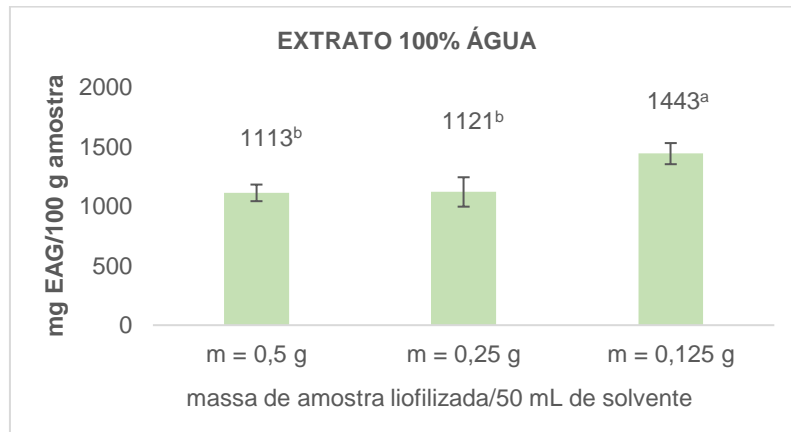


Figura 7 - Otimização das condições de extração para determinação dos Fenóis totais no extrato 100% água

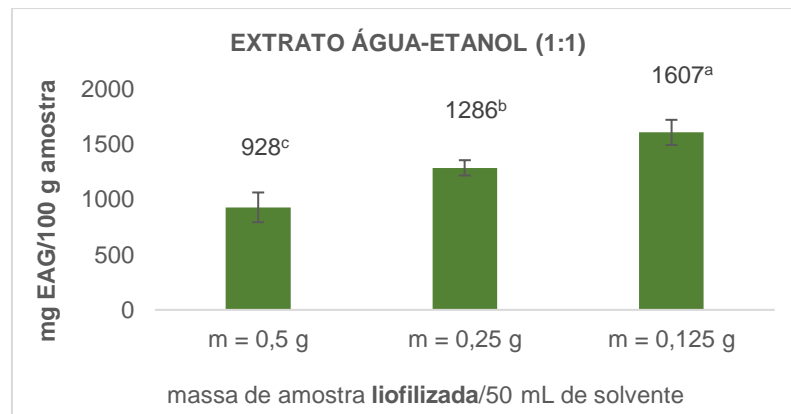


Figura 8 - Otimização das condições de extração para determinação dos Fenóis totais no extrato água-etanol (1:1)

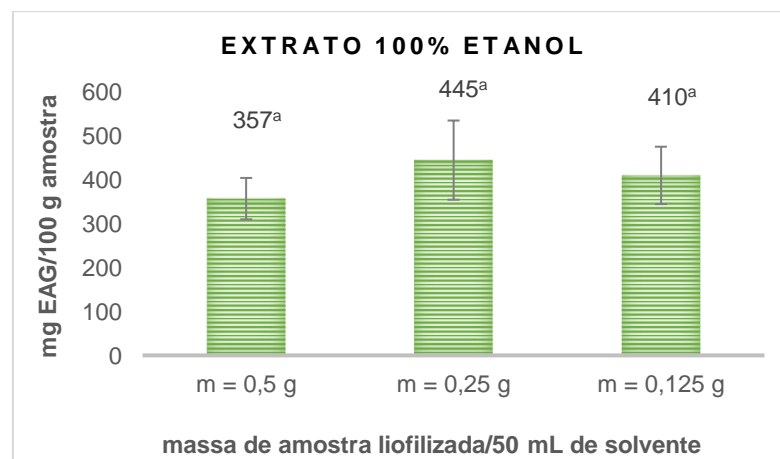


Figura 9 - Otimização das condições de extração para determinação dos Fenóis totais no extrato 100% etanol

Selecionadas as melhores condições de extração, procedeu-se à determinação de todos os parâmetros nas amostras. A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos para as diferentes variedades de cladódios relativamente aos compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante determinada pelos métodos de FRAP e de inibição do DPPH*.

O teor de fenólicos totais variou entre 1053 e 1825 mg EAG/100 g, sendo a variedade mais rica em compostos fenólicos a BB e a mais pobre a BA, retirando significado à cor dos frutos na avaliação de riqueza neste tipo de compostos. As amostras L e V, embora com valores médios diferentes, não apresentam diferenças significativas entre si ($p > 0.05$).

Os teores de flavonoides variaram entre 86 e 127 mg EC/100 g. À semelhança do referido para os compostos fenólicos, a amostra BB é a mais rica e a BA a mais pobre nestes compostos.

Tabela 9 - Atividade antioxidante e compostos bioativos das quatro variedades de cladódios.

	Variedades de cladódios analisadas				Cladódios	Referência
	BA	BB	L	V		
Compostos bioativos						
Fenólicos	1053,48 ± 111,46 ^c	1824,53 ± 145,31 ^a	1606,84 ± 113,83 ^b	1719,98 ± 122,10 ^{a,b}	1480 - 1890 3433 1960 - 3260	(Andreu <i>et al.</i> , 2018) (Rocchetti <i>et al.</i> , 2018) (Figuroa-Pérez <i>et al.</i> , 2018)
Flavonoides	86,35 ± 7,78 ^c	126,91 ± 12,04 ^a	92,93 ± 8,33 ^{b,c}	104,64 ± 12,83 ^b	1860	(Figuroa-Pérez <i>et al.</i> , 2018)
Atividade antioxidante						
FRAP	3807,34 ± 127,24 ^c	4612,97 ± 166,71 ^{a,b}	4288,64 ± 321,33 ^b	4819,40 ± 175,59 ^a		
DPPH*	109,01 ± 11,46 ^b	152,72 ± 46,60 ^b	346,06 ± 77,26 ^a	169,89 ± 41,76 ^b	587,35*	(Rocchetti <i>et al.</i> , 2018)

Resultados de DPPH* expresso em mg ET/100 g, FRAP expresso em µmol ESF/100 g, fenólicos totais expressos em mg EAG/100 g e flavonoides expressos em mg EC/100 g na forma de média ± desvio padrão (n=3). * Resultados expressos em mg EAG/100 g. Os valores que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes ($p < 0,05$), determinados por ANOVA seguida pelo teste Tukey HSD. Resultados apresentados em equivalentes de Trolox (ET), equivalentes de sulfato ferroso (ESF), equivalentes de ácido gálico (EAG) e equivalentes de catequina (EC). BA – branca do Arrepiado, BB – branca da Barquinha, L – Laranja de Olaia, V – vermelha de Olaia.

A amostra V foi a variedade com maior atividade antioxidante determinada pelo método de FRAP (4819 $\mu\text{mol ESF}/100\text{ g}$) e a L (laranja de Olaia) a que apresentou maior atividade antioxidante pelo método de inibição do DPPH* (346 mg ET/100 g).

Os valores obtidos foram comparados com o estudo realizado por Andreu *et al.* (2018) em cladódios e frutos da *Opuntia ficus-indica* de diferentes cultivares, em Alicante, Espanha. Esse estudo revelou valores médios de compostos fenólicos totais de 1890 e 1480 mg de EAG/100 g para cladódios jovens e adultos, respetivamente. Os teores descritos são semelhantes, apesar do método de extração utilizado usar como solvente metanol:água (80:20). Um outro estudo realizado na Sicília, Itália, com cladódios adultos (Rocchetti *et al.*, 2018) utilizou extratos de metanol:água numa proporção de 80:20 e revelou um valor médio de fenólicos totais de 3433 mg de EAG/100 g. Por sua vez, Figueroa-Pérez *et al.* (2018) avaliaram cladódios com 12, 20 e 30 dias, respetivamente, da região de Guanajuato, México. Encontraram um maior teor em fenólicos totais e flavonoides nos cladódios de 20 dias, tendo os de 30 dias apresentado quantidades inferiores. Assim, o teor médio de compostos fenólicos totais foi de 3260 mg de EAG/100 g para os cladódios de 20 dias e 1960 mg de EAG/100 g para os de 30 dias. Relativamente ao total de flavonoides foi encontrado um teor médio de 1860 mg de EC/100 g e 1250 mg de EC/100 g nos cladódios de 20 dias e 12 dias, respetivamente. O estudo de Figueroa-Pérez *et al.* (2018) difere no tempo de maturação dos cladódios.

Os teores de fenólicos totais nas quatro variedades de cladódios apresentam valores diferentes dos reportados na literatura, com diferenças associadas com a origem e as condições de crescimento, mas principalmente nas condições dos extratos utilizados o mesmo acontecendo com os flavonoides, reportados por Figueroa-Pérez *et al.* (2018).

Estas diferenças poderão ainda dever-se à variedade da planta, às condições climáticas, localização geográfica, altura de colheita, etc. que poderão influenciar a composição química dos cladódios.

6. Conclusões

Tendo em conta o perfil nutricional dos cladódios, com dois anos de maturação, verificou-se que estes possuem um grande potencial para ser utilizados em aplicações alimentares. São boas fontes de fibra as amostras BA e L, revelando os valores mais elevados na ordem da 30 - 40%. Como é do conhecimento geral a fibra é um nutriente procurado pelos consumidores pelas suas propriedades interessantes para a saúde e controlo da saciedade e do peso. Por tal facto pode antecipar-se a sua utilização como ingrediente funcional em *snacks* ou outro tipo de produtos funcionais.

Todas as amostras apresentam teores de cinzas elevados, o que significa a presença de minerais em abundância. Estes são fundamentais ao bem-estar e prevenção de doenças. Os seus teores, são importantes para manter a hidratação, tanto mais que são plantas que crescem em zonas áridas. São mais um motivo que impulsiona a sua utilização em alimentação humana.

Embora tendo teores baixos de proteína, esta é constituída por todos os AA essenciais. Esta característica vem apoiar o seu potencial de valorização.

Os teores de gordura são reduzidos, mas com interesse pois incluem AG essenciais (ácido linoleico e Linoléico) mas também bastantes AG saturados de cadeia média associados a efeitos benéficos na microbiota intestinal.

É uma planta com teor de hidratos de carbono de reserva baixo, mas teores interessantes de açúcares livres, o que contribui para a sua aceitação pelos consumidores.

Assim podemos concluir que de acordo com os parâmetros avaliados, os cladódios adultos podem contribuir para a alimentação humana e também promover o desenvolvimento sustentável. A valorização dos cladódios contribui para a utilização integral da planta, evitando a ação invasora dos cladódios eliminados. Este facto permite aumentar o rendimento dos produtores e contribuir para a sustentabilidade económica e social. A nível ambiental, a cultura deste tipo de plantas vai tornar rentável solos abandonados ou não produtivos, contribuindo a recuperação de ecossistemas e redução do CO₂ atmosférico.

Pelo referido esta atitude de valorização dos cladódios contribui para atingir o objetivo 12 – Produção e consumo sustentáveis da Agenda 2030.

7. Desenvolvimento de produto

No âmbito deste trabalho surgiu a oportunidade de participar no concurso InovOpuntia 2019 – “TOPPING”. O desafio promovido pela APROFIP (Associação Portuguesa de Figo-da-índia Portuguesa). Para tal desenvolveu-se um trabalho de investigação com figo-da-índia. Desenvolveu-se um produto inovador, mantendo os sabores tradicionais da gastronomia portuguesa. Para além do figo-da-índia, a receita incluiu o aproveitamento dos cladódios, sendo este o segundo ingrediente da formulação.

Com esta formulação pretendeu-se contribuir para a disponibilidade alimentar, na perspetiva de aumentar a diversidade de alimentos, de qualidade e em quantidade adequada a uma alimentação saudável. Além disso, esta produção é importante a sustentabilidade social do país, mais concretamente na região Sul de Portugal, onde o cultivo surgiu em 2008.

O produto formulado obteve o 4º lugar neste concurso, o que sustenta, além da inovação, o potencial da matéria-prima que lhe deu origem: a planta e os diferentes tipos de fruto.



Figura 10 - Topping de figo-da-índia (variedade vermelha)

8. Perspetivas de trabalho futuro

Considerando os resultados obtidos e dado o elevado teor de cinzas, é de todo o interesse analisar a composição em minerais. A informação a obter vai ser muito importante para aplicações futuras deste produto, a nível nutricional.

A falta de concordância entre o teor de aminoácidos totais e o teor de proteína chama a atenção para a necessidade de determinação de azoto não proteico. Para se poder avançar para a formulação de produtos alimentares é fundamental a realização de estudos de toxicidade, o que garantiria a segurança do produto como ingrediente alimentar.

Será também de todo o interesse proceder à realização de inquéritos e/ou provas de análise sensorial de forma a perceber se o consumidor está disponível para consumir os cladódios em diferentes apresentações.

9. Referências

- AJP, A. (2017). Manual Boas Práticas para Culturas Emergentes - A cultura do figo-da-índia.
- Almeida, C. (2014). Agroforúm,. *Revista da Escola Superior Agrária de C. Branco*.
- Andreu-Coll, L., Cano-Lamadrid, M., Sendra, E., Carbonell-Barrachina, Á., Legua, P., & Hernández, F. (2019). Fatty acid profile of fruits (pulp and peel) and cladodes (young and old) of prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] from six Spanish cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, *84*, 103294.
- Andreu, L., Nuncio-Jauregui, N., Carbonell-Barrachina, A. A., Legua, P., & Hernandez, F. (2018). Antioxidant properties and chemical characterization of Spanish *Opuntia ficus-indica* Mill. cladodes and fruits. *Journal of Science and Food Agriculture*, *98*(4), 1566-1573.
- Araújo, M., Valente, L. M. P., Rema, P., Ferraro, V., Pintado, M., Sousa-Pinto, I., Oliveira, M. B. (2015). Iodine enrichment of rainbow trout flesh by dietary supplementation with the red seaweed *Gracilaria vermiculophylla*. *Aquaculture*, *446*, 132-139.
- Assembly, U. N. G. (2015). Resolution adopted by the General Assembly on 25 September 2015. *Washington: United Nations*.
- Ayadi, M. A., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M., & Attia, H. (2009). Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. *Industrial Crops and Products*, *30*(1), 40-47.
- Batista, E. d. S., Costa, A. G. V., & Pinheiro-Sant'ana, H. M. (2007). Adição da vitamina E aos alimentos: implicações para os alimentos e para a saúde humana. *Revista de Nutrição*, *20*(5), 525-535.
- Bazzano, L. A., He, J., Ogden, L. G., Loria, C. M., Vupputuri, S., Myers, L., & Whelton, P. K. (2002). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *76*(1), 93-99.

- Brückner, H., & Westhauser, T. (2003). Chromatographic determination of L-and D-amino acids in plants. *Amino Acids*, 24(1-2), 43-55.
- Butera, D., Tesoriere, L., Di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, A. M., Livrea, M. A. (2002). Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6895-6901.
- Calder, P. C., Campoy, C., Eilander, A., Fleith, M., Forsyth, S., Larsson, P.-O., van de Heijning, B. J. (2019). A systematic review of the effects of increasing arachidonic acid intake on PUFA status, metabolism and health-related outcomes in humans. *British Journal of Nutrition*, 121(11), 1201-1214.
- Cheynier, V. (2012). Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochemistry reviews*, 11(2-3), 153-177.
- Corrales-García, J. (2011). Perspectivas agroindustriales de la postcosecha de nopalito y tuna. *IX Simposium-Taller Nacional y II Internacional sobre "Producción y Aprovechamiento del Nopal y Maguey*, 12-13.
- Costa, A. S. G., Alves, R. C., Vinha, A. F., Barreira, S. V. P., Nunes, M. A., Cunha, L. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2014). Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products*, 53, 350-357.
- DGS, V. c. C. M. (2006). *Os Minerais*. Direcção Geral da Saúde Retrieved from <https://www.dgs.pt/ficheiros-de-upload-1/alimentacao-minerais-pdf.aspx>.
- El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M., . Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. *Molecules*, 19(9), 14879-14901.
- FAO. (2020). <http://www.fao.org/portugal/acerca-de/en/>
- Fernandez, M. L. L., Emme CK Trejo, Augusto McNamara, Donald J., (1994). Prickly pear (*Opuntia* sp.) pectin alters hepatic cholesterol metabolism without affecting

- cholesterol absorption in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *The Journal of Nutrition*, 124(6), 817-824.
- Feugang, J. M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F. C., & Zou, C. (2006). Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front Biosci*, 11(1), 2574-2589.
- Figuroa-Pérez, M. G., Pérez-Ramírez, I. F., Paredes-López, O., Mondragón-Jacobo, C., & Reynoso-Camacho, R. (2018). Phytochemical composition and *in vitro* analysis of nopal (*O. ficus-indica*) cladodes at different stages of maturity. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1728-1742.
- Fрати, A. M., Vera, O. L., & Ariza, C. A. (1992). Evaluation of nopal capsules in diabetes mellitus. *Gaceta medica de Mexico*, 128(4), 431-436.
- Galati, E., Monforte, M., Tripodo, M., d'Aquino, A., & Mondello, M. (2001). Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill.(Cactaceae): ultrastructural study. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(1), 1-9.
- Galati, E., Pergolizzi, S., Miceli, N., Monforte, M., & Tripodo, M. (2002). Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. cladodes. *Journal of Ethnopharmacology*, 83(3), 229-233.
- Galati, E., Tripodo, M., Trovato, A., d'Aquino, A., & Monforte, M. (2003). Biological activity of *Opuntia ficus indica* cladodes II: Effect on experimental hypercholesterolemia in rats. *Pharmaceutical biology*, 41(3), 175-179.
- Griffith, M. P. (2004). The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. *American Journal of Botany*, 91(11), 1915-1921.
- Guevara-Figueroa, T., Jiménez-Islas, H., Reyes-Escogido, M. L., Mortensen, A. G., Laursen, B. B., Lin, L. W, Barba de la Rosa, A. P. (2010). Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 525-532.

- Guiné, R. P., & Henriques, F. (2011). O papel dos ácidos gordos na nutrição humana e desenvolvimentos sobre o modo como influenciam a saúde. *Millenium*(40), 7-21.
- Hegwood, D. A. (1990). Human health discoveries with *Opuntia sp.*(prickly pear). *HortScience*, 25(12), 1515-1516.
- Hernández-Urbiola, M., Contreras-Padilla, M., Pérez-Torrero, E., Hernández-Quevedo, G., Rojas-Molina, J., Cortes, M., & Rodríguez-García, M. (2010). Study of nutritional composition of nopal (*Opuntia ficus indica* cv. *Redonda*) at different maturity stages. *The Open Nutrition Journal*, 4(1).
- Hfaiedh, N., Allagui, M. S., Hfaiedh, M., El Feki, A., Zourgui, L., & Croute, F. (2008). Protective effect of cactus (*Opuntia ficus indica*) cladode extract upon nickel-induced toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3759-3763.
- Inglese, P., Barbera, G., & La Mantia, T. (1995). Research strategies for the improvement of cactuspear (*Opuntia ficus-indica*) fruit quality and production. *Journal of Arid Environments*, 29(4), 455-468.
- Inglese, P., Mondragon, C., Nefzaoui, A., & Saenz, C. (2017). Crop ecology, cultivation and uses of cactus pear. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- INIAV, A. F., Duarte Candeias, Inocência Seita Coelho, José António Passarinho, José Carlos Ramalinho Alves, Luis Campos Andrada, Maria Elvira Ferreira, Maria Manuela Roldão Oliveira, Maria Margarida Lobão sapata, Paulo Jorge Tecedeiro Ramos, Pedro Reis. (2016). *A Cultura da Figueira-da-índia e a Valorização Agroindustrial do Fruto* (J. A. Passarinho Ed. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.) ed.).
- invasoras.pt. (2014). *Opuntia ficus-indica* (figueira-da-índia). Obtido de www.invasoras.pt
- ISO, B., & STANDARD, B. (2010). Animal and vegetable fats and oils—Gas chromatography of fatty acid methyl esters.

- Jaramillo-Flores, M. E., González-Cruz, L., Cornejo-Mazon, M., Dorantes-Alvarez, L., Gutierrez-Lopez, G. F., & Hernandez-Sanchez, H. (2003). Effect of thermal treatment on the antioxidant activity and content of carotenoids and phenolic compounds of cactus pear cladodes (*Opuntia ficus-indica*). *Food science and technology international*, 9(4), 271-278.
- Jesus, J. H. G. d. (2014). *Extracção e caracterização de óleo essencial de sementes de Opuntia ficus indica*. Faculdade de Ciências e Tecnologia,
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., & Rubel, F. (2006). World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift*, 15(3), 259-263.
- Krinsky, N. I., Beecher, G. R., Burk, R. F., Chan, A. C., Erdman, J. J., Jacob, R. A., Jialal, I., Kolonel, L. N., Marshall, J. R., Taylor Mayne, P. R. and Prentice, R. L. (2000). Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Institute of Medicine.
- Lanuzza, F., Occhiuto, F., Monforte, M. T., Tripodo, M. M., D'Angelo, V., & Galati, E. M. (2017). Antioxidant phytochemicals of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cladodes with potential anti-spasmodic activity. *Pharmacognosy magazine*, 13(Suppl 3), S424.
- Leopoldo, G. C., Santiago, F. K., Arturo, B. P. L., Norma, G. V., & Aurea, B. N. (2012). Carotenoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of low-calorie nopal (*Opuntia ficus-indica*) marmalade. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36(3), 267-275.
- Machado, S., Costa, A. S., Pimentel, F., Oliveira, M. B. P., & Alves, R. C. (2020). A study on the protein fraction of coffee silverskin: protein/non-protein nitrogen and free and total amino acid profiles. *Food Chemistry*, 126940.
- Marchante, H., Morais, M., Freitas, H., & Marchante, E. (2014). *Guia prático para a identificação de plantas invasoras em Portugal*: Imprensa da Universidade de Coimbra / Coimbra University Press.

- Mello, A. C. L., Santos, D. C., Silva, M. C., & Coelho, J. J. (2016). Good Agricultural Practices In Cactus Pear Crop. In M. J. Ochoa (Ed.), Good Agricultural Practices In Cactus Pear Crop.
- Méndez, L. P., Flores, F. T., Martín, J. D., Rodríguez, E. M. R., & Romero, C. D. (2015). Physicochemical characterization of cactus pads from *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica*. *Food Chemistry*, 188, 393-398.
- Nazareno, M. A. (2014). *Phytochemicals of Nutraceutical Importance from cactus and their role in human health*. In D. Prakash & G. Sharma. *Phytochemicals of Nutraceutical Importance from cactus and their role in human health*. Oxford, UK, CABI.
- Nefzaoui, A., & Ben Salem, H. (1998). *Spineless cacti: a strategic fodder for West Asia and North Africa arid zones*. Paper presented at the Proc. Int. Symp. Cactus Pear and Napolitos. Processing and use. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales/FAO. Santiago. Chile.
- Nunes, M. A., Costa, A. S., Bessada, S., Santos, J., Puga, H., Alves, R. C., .Oliveira, M. B. P. (2018). Olive pomace as a valuable source of bioactive compounds: a study regarding its lipid-and water-soluble components. *Science of the total environment*, 644, 229-236.
- ONUNews. (2020). Mensagem sobre o Dia Internacional da Mãe Terra, o secretário-geral da ONU. Obtido de: <https://news.un.org/pt/story/2020/04/1711232>
- Pathak, N., Rai, A., Kumari, R., & Bhat, K. (2014). Value addition in sesame: A perspective on bioactive components for enhancing utility and profitability. *Pharmacognosy reviews*, 8(16), 147.
- Prakash, D., & Gupta, K. (2009). The antioxidant phytochemicals of nutraceutical importance. *The Open Nutraceuticals Journal*, 2(1).
- Decreto-Lei n.º 92/2019 de 10 de julho, (2019).
- Rebello, C. J., O'Neil, C. E., & Greenway, F. L. (2016). Dietary fiber and satiety: the effects of oats on satiety. *Nutrition Reviews*, 74(2), 131-147.

- Regato, M., & Fole, F. (2015). A cultura da Figueira-da-índia (*Opuntia ficus-indica* (L.) no Alentejo. *Revista Voz do Campo*, 185, VI-VIII.
- Reis, C., Ribeiro, M., & Gazarini, L. (2014). Caracterização e avaliação de populações portuguesas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. *Agroforum: revista da Escola Superior Agrária de Castelo Branco*, 22(33), 7-17.
- Rocchetti, G., Pellizzoni, M., Montesano, D., & Lucini, L. (2018). Italian *Opuntia ficus-indica* Cladodes as Rich Source of Bioactive Compounds with Health-Promoting Properties. *Foods*, 7(2).
- Rodrigues, A., Reis, C., Blasco, M., Fonseca, A., & Monteiro, M. (2014). Jornadas Ibéricas da Figueira-da-índia “*Opuntia ficus-indica* uma oportunidade para a região”: livro de resumos. *Jornadas Ibéricas da Figueira da Índia*.
- Rodrigues, A. M., F. I. P., Reis, C. M. G. and Blasco, M.. (2016). Nutritional Value of *Opuntia Ficus-Indica* Cladodes from Portuguese Ecotypes. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 22 (No 1), 40-45.
- Rodríguez-Cruz, M., Tovar, A. R., del Prado, M., & Torres, N. (2005). Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Revista de Investigación Clínica*, 57(3), 457-472.
- Saenz, C. (2000). Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes. *Journal of Arid Environments*, 46(3), 209-225.
- Sáenz, C., Berger, H., Rodríguez-Félix, A., Galleti, L., Corrales García, J., & Sepúlveda, E. (2013). Agro-industrial utilization of cactus pear. Food and Agriculture Organization, Rome.
- Sapata, M. M., Ferreira, A., & Oliveira, M. M. (2018). Cladódios de figueira-da-índia para a indústria alimentar.
- Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga, E., & Aceituno, C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments*, 68(4), 534-545.

- Shackleton, S., Kirby, D., & Gambiza, J. (2011). Invasive plants – friends or foes? Contribution of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) to livelihoods in Makana Municipality, Eastern Cape, South Africa. *Development Southern Africa*, 28(2), 177-193.
- Silva, M. L. C., Costa, R. S., dos Santos Santana, A., & Koblitz, M. G. B. (2010). Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(3), 669-681.
- Tahir, H. E., Xiaobo, Z., Komla, M. G., & Mariod, A. A. (2019). Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) as a Source of Bioactive Compounds. In *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products* (pp. 333-358): Springer.
- Tajra, R., Pereira, M., Bernardo, J., & Batista, A. (2019). *As potencialidades da palma-forrageira (Opuntia ficus-indica L. Mill.) no Nordeste do Brasil*.
- Tontisirin, K. (2003, 3-6 December 2002). *Chapter 2: Methods of food analysis. Food energy—Methods of analysis and conversion factors: Report of a Technical Workshop*.
- Van Der Meer, P., & Ortiz, D. G. (2006). Algunos taxones nuevos del género *Opuntia* Mill., en la Comunidad Valenciana. *Flora Montiberica*(32), 39-50.
- Walker, J., Pekmezovic, A., & Walker, G. (2019). *Sustainable Development Goals: Harnessing Business to Achieve the SDGs through Finance, Technology and Law Reform*: Wiley.
- Wu, G. (2009). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino acids*, 37(1), 1-17.
- Zourgui, L., El Golli, E., Bouaziz, C., Bacha, H., & Hassen, W. (2008). Cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes prevent oxidative damage induced by the mycotoxin zearalenone in Balb/C mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46(5), 1817-1824.