

Maria da Graça Pereira Lopes Patrício Serrador

**Estudo piloto em humanos de uma planta alimentar
não convencional (PANC): adesão e efeitos da
capuchinha (*Tropaeolum majus* L.) em indicadores
biométricos e clínicos**

Orientador: Professor Doutor Sérgio Faloni de Andrade

Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa

Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2022

Maria da Graça Pereira Lopes Patrício Serrador

Estudo piloto em humanos de uma planta alimentar não convencional (PANC): adesão e efeitos da capuchinha (*Tropaeolum majus* L.) em indicadores biométricos e clínicos

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Produtos de Saúde e suplementos alimentares, no Mestrado em Produtos de Saúde e Suplementos Alimentares, conferido pela Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa, no dia 21/12/2022, perante o júri, com o Despacho de Nomeação Nº 11/2022, de 12 de dezembro de 2022, com a seguinte composição:

Presidente: Prof^ª. Doutora Catarina Fialho Rosado

Arguente: Prof^ª. Doutora Alda Pereira da Silva

Orientador: Prof. Doutor Sérgio Andrade

Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa

Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2022

Agradecimentos

Um trabalho de investigação é particularmente possível graças ao empenho e esforço daquele que se propõem fazê-lo, contudo representa grandemente a contribuição generosa e o apoio de todos os que da sua vida fazem parte.

Ao meu Orientador Professor Doutor Sérgio Faloni que esteve sempre disponível e me dispensou toda a ajuda necessária para concretizar este trabalho.

À minha Coorientadora Professora Doutora Maria do Céu Costa por aceitar e incentivar a minha ideia para este trabalho. Ajudou-me sempre com as suas oportunas e precisas orientações. O seu conhecimento e presença foram sem dúvida decisivos na concretização dos meus propósitos.

À Professora Doutora Alda Pereira da Silva, agradeço o interesse demonstrado por este projeto, todo o conhecimento partilhado comigo e o desinteressado e vasto contributo na concretização do mesmo.

À Doutora Rejane, agradeço a ajuda e a disponibilidade, apesar da distância.

A todos e a cada um dos participantes voluntários deste projeto o meu grande muito obrigada pela colaboração e disposição, sem a vossa desinteressada mas determinada participação seria impossível concretizar este trabalho.

À minha equipa de trabalho agradeço o apoio e a amizade que me permite sentir que o conhecimento e o trabalho em equipa é o alicerce mais precioso para almejar o bem de todos e de toda a comunidade.

Aos meus amigos agradeço as memórias que me fazem sorrir e acreditar que não existem problemas, apenas existem desafios.

Às minhas irmãs de coração sempre disponíveis para o encontro que por vezes só acontece na imaginação.

À Maria e à Carlota, amigas incondicionais. Pelos breves mas tão profundos momentos de companhia e ajuda desinteressada. Apesar da idade são uma inspiração.

À minha Família que me transmitiu os valores que suportam o meu caráter, agradeço a compreensão pela minha ausência.

À minha mãe agradeço a vida, a companhia e os ensinamentos.

Ao meu marido, pelo amor dedicado, por cuidar de um jardim que lhe pertence: o meu coração. Ao meu filho, por estar sempre presente em todos os meus propósitos, vocês são a razão da minha vida e a alegria das minhas conquistas. Não há distância que nos separe.

Por último, mas não esquecido o Pai terreno; no Céu e sempre no coração. Ao meu Pai agradeço todos os ensinamentos da vida e a consciência de esperar pelas ocasiões e de lutar pelas oportunidades.

Este projeto de investigação foi financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) através da bolsa UIDB / 04567/2020 do CBIOS. O Orientador Sérgio Faloni de Andrade é financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) - Contrato de Estímulo ao Emprego Científico com o número de referência CEEC / CBIOS / PMHD / 2018.

Resumo

As flores comestíveis de *Tropaeolum majus* conhecidas como “capuchinhas” são utilizadas mundialmente como suplemento alimentar e também em dietas à base de vegetais em sumos, sopas, maioneses e saladas por consumidores em busca de fontes de fitoquímicos considerados benéficos para a saúde humana. Apesar de alguns estudos alertarem sobre potenciais efeitos adversos cardiovasculares das sementes e de altas doses de extratos alcoólicos no sistema reprodutivo, a maioria dos estudos mostra uma série de qualidades nutricionais e efeitos benéficos da planta e seus extratos aquosos *in vitro* e em animais, incluindo o efeito hepatoprotetor de um extrato metanólico.

A fim de obter pela primeira vez dados sobre a aceitação e efeitos da ingestão diária de uma quantidade padrão (porção de 20g) das flores de *T. majus*, foi desenhado um estudo piloto com voluntários humanos saudáveis acompanhados durante 30 dias. Antes e após a ingestão, foi analisada a composição corporal, frequência cardíaca, pressão arterial e parâmetros hematológicos e bioquímicos.

Os resultados preliminares corroboram as evidências da literatura sobre o uso seguro das flores de *T. majus* numa dieta equilibrada e variada, e alertam para a importância de realizar estudos mais detalhados e com maior número de voluntários. Contudo, apesar do consumo tradicional em todo o mundo, ainda não é possível uma conclusão sobre a segurança da espécie botânica *T. majus* porque qualquer lista de critérios de avaliação de QPS - Quality Presumption of Safety só pode ser aplicada a extratos aquosos específicos, porque é em água que se cozinha, em conformidade com as orientações da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA).

Palavras-Chave

Tropaeolum majus; Plantas Alimentares Não Convencionais; PANC; capuchinha; flores comestíveis

Abstract

The edible flowers of *Tropaeolum majus* known as nasturtium are currently used worldwide as food supplement and also in vegetable-based diets in smoothies and soups, mayonnaise and salads by consumers in search of sources of phytochemicals considered beneficial to human health. Despite some studies warning of potential cardiovascular adverse effects of the seeds and of high doses of alcoholic extracts on the reproductive system, most studies show a series of nutritional qualities and beneficial effects of the crude plant and its aqueous extracts *in vitro* and in animals, including the hepatoprotective effect of a methanolic extract.

In order to obtain for the first time data on the daily intake acceptance and outcomes of a standard amount (20g serving), a pilot study was designed with healthy human volunteers followed for 30 days. Before and after ingestion, body composition, heart rate, arterial pressure and hematological and biochemical parameters were analysed.

The preliminary results corroborate the evidence in the literature on the safe use of flowers and their stems in a balanced and varied diet and, being promising, stimulate a future study to validate the nutritional characteristics for a larger population. However, despite the traditional consumption around the world, it is still not possible to reach a conclusion about the safety of the botanical species *T. majus* because any list of evaluation criteria of QPS - Quality Presumption of Safety can only be applied to specific aqueous extracts, because it is cooked in water, in accordance with the guidelines of the European Food Safety Authority (EFSA).

Keywords

Tropaeolum majus; unconventional food plant (UFP); nasturtium; edible flowers

Lista de Abreviaturas

EFSA – European Food Safety Authority/ Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

IRE – Investigadora Responsável do Estudo

MoA – Modo de Ação

PANC – Plantas Alimentares Não Convencionais

QPS- Quality Presumption of Safety (Presunção de Segurança com base na Qualidade)

TTC – Toxicological Threshold of Concern (Limiar de Preocupação Toxicológica)

UFP – Unconventional Food Plants

Índice Geral

AGRADECIMENTOS.....	III
RESUMO	V
ABSTRACT	VII
LISTA DE ABREVIATURAS	IX
ÍNDICE DE TABELAS	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XV
I. INTRODUÇÃO.....	1
I.1. ENQUADRAMENTO GERAL, JUSTIFICAÇÃO E DESENHO DO ESTUDO	1
I.2. ESTADO DA ARTE	6
<i>I.2.1. Popularização do uso como PANC</i>	<i>6</i>
<i>I.2.2. Resumo de resultados prévios de investigações em animais.....</i>	<i>9</i>
II. PARTE EXPERIMENTAL	13
II.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
<i>II.1.1. Material vegetal</i>	<i>13</i>
<i>II.1.2. Participantes.....</i>	<i>13</i>
<i>II.1.3. Procedimentos.....</i>	<i>15</i>
II.2. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS	17
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
IV. CONCLUSÃO.....	28
V. CONFLITO DE INTERESSES.....	29
VI. REFERÊNCIAS	30
ANEXO 1	35
ANEXO 2	41

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Frequência de consumo alimentar dos participantes (continua nas páginas 19 e 20).....	18
Tabela 2 - Pressão arterial (sístole e diástole, em milímetros de mercúrio – mmHg) e frequência cardíaca (pulso, em batimentos por minuto – bpm) dos voluntários no início e no final do estudo. A comparação estatística entre o início e o final do estudo dos três parâmetros utilizando o teste de Wilcoxon (R Core Team, 2016) mostra que não há diferenças significativas (W = 9, 13 e 13,5, respetivamente, e p-Valor > 0,05 em todos os casos).....	21
Tabela 2 – Parâmetros hematológicos antes e após a ingestão de refeições contendo 20 g de flores de <i>T. majus</i> / diariamente por 30 dias (continua na página 23).....	22
Tabela 3 — Parâmetros bioquímicos antes e após a ingestão de refeições contendo 20 g de flores de <i>T. majus</i> / diariamente por 30 dias (continua na página 24).....	23

Índice de Figuras

Figura 1 – Sopa de legumes contendo 14 g de flores de capuchinha.....	1
Figura 2 – β -caroteno.....	2
Figura 3 – Zeaxantina.....	3
Figura 4 – α -caroteno.....	3
Figura 5 – Luteína.....	3
Figura 6 – Anteraxantina.....	3
Figura 7 – Violaxantina.....	3
Figura 8 – Quercetina.....	4
Figura 9 – Miricetina.....	4
Figura 10 – Campferol.....	4
Figura 11 – Pelargonidina.....	4
Figura 12 – Delphinidina.....	4
Figura 13 – Cianidina.....	5
Figura 14 – Estrutura geral dos ácidos hidroxicinâmicos.....	5
Figura 15 – Ácido gálico.....	8
Figura 16 – Antocianinas.....	8
Figura 17 – Ácido cafeico.....	8
Figura 18 – Ácido p-cumárico.....	8
Figura 19 – Massa de gordura corporal antes e após a ingestão de refeições contendo flores de <i>T. majus</i> (20g/dia por 30 dias). Os dados são expressos como média $\pm$ DP. As comparações foram feitas pelo teste T.....	22
Figura 20 – Marcadores de sabor e odor característicos de crucíferas benzilglucosinolato (glucotropaeolina) presente em <i>Tropaelum majus</i> (capuchinha) e	

fenetilglicosinolato (gluconasturtiína) presente em <i>Nasturtium officinale</i> R.Br. (agrião) (Breme et al., 2007).....	25
Figura 21 – De acordo com a diretriz da EFSA (2022), pode ser considerado um nível seguro de ingestão para definir a presunção de segurança com base na Qualidade – QPS.....	28

I. INTRODUÇÃO

I.1. ENQUADRAMENTO GERAL, JUSTIFICAÇÃO E DESENHO DO ESTUDO

Flores comestíveis foram historicamente utilizadas para melhorar a apresentação e o aroma de alimentos preparados, mas hoje em dia vem crescendo seu uso como suplementos alimentares e ingredientes dietéticos à base de vegetais em *smoothies*, e outras receitas usadas por consumidores em busca de fontes de fitoquímicos considerados benéficos para a saúde humana. Foi na Idade Média que as flores foram introduzidas na alimentação, tornando-se o seu uso comum sobretudo na Europa, França e Suíça onde se destacaram no uso culinário, além da Indonésia e Ásia (Dujmović et al., 2022; Fukalova et al. 2021; Mlcek et al., 2021).

Tropaeolum majus L. (Figura 1) é popularmente conhecida como nasturtium de jardim, capuchinha, agrião indiano ou agrião dos monges e pertence à família Tropaeolaceae. É uma planta nativa dos Andes, principalmente da Bolívia e da Colômbia, onde cresce de forma selvagem, no entanto, foi trazida do Peru para a Europa no século XVI e é cultivada com sucesso como uma planta decorativa (Jakubczyk et al., 2018; PIER, 2021). Atualmente, é encontrada em toda a Europa, em algumas regiões da África, Ásia e Oceania (GBIF, 2021).



Figura 1 – Sopa de legumes contendo 14 g de flores de capuchinha.

A capuchinha é utilizada sobretudo em saladas, mas também em omeletes, refogados e purés. (Lopes et al., 2007). É também utilizada na medicina popular, no

Estudos pré-clínicos demonstraram efeitos anti-hipertensivos e diuréticos (Barboza et al., 2014; Gasparotto Junior et al., 2011) e ensaios *in vitro* em cultura de células revelaram efeitos anti-adipogênicos dos extratos de *T. majus* (Kim et al., 2017). Além disso, vários estudos toxicológicos (toxicidade crônica e subcrônica, toxicidade reprodutiva e genotoxicidade) foram realizados e mostraram que infusões de *T. majus* e extratos aquosos são seguros (Araújo et al., 2018; Traesel et al., 2017). Porém, o uso de altas doses de extratos hidroetanólicos não deve ser recomendado para homens em idade reprodutiva e gestantes, pois altas doses desses extratos (>300 mg/kg) poderiam interferir na função reprodutiva e na gestação de animais de laboratório (Araújo et al., 2018; Gomes et al., 2012; Khorsandi & Oroojan, 2018; Traesel et al., 2017), embora o pré-tratamento com extrato de álcool metanólico de *T. majus* forneça proteção contra a toxicidade hematológica e hepática induzida por maleato dietílico em ratos, e esses resultados foram confirmados por exames histológicos (Koriem et al., 2010). Nos últimos anos, a flor de *T. majus* tem sido amplamente utilizada na culinária como planta alimentar não convencional (PANC) para decorar pratos, principalmente saladas, e sendo caracterizada por um sabor picante e como importante fonte de carotenóides como α -caroteno (Figura 2), β -caroteno (Figura 3), zeaxantina (Figura 4), luteína (Figura 5), antheraxantina (Figura 6), violaxantina (Figura 7), zeinoxantina, β -criptoxantina, e compostos fenólicos como a quercetina (Figura 8), a miricetina, (Figura 9), o campferol (Figura 10), a pelargonidina (Figura 11), a delfinidina (Figura 12), a cianidina (Figura 13), e, ainda, derivados do ácido hidroxicinâmico (Figura 14) (Garzón & Wrolstad, 2009; Mazon et al., 2020; Mlcek & Rop, 2011; Navarro-González et al., 2014; Niizu & Rodriguez-Amaya, 2006).

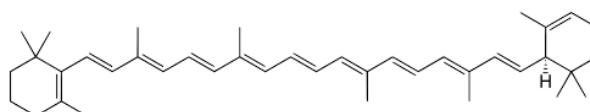


Figura 2 - α -caroteno

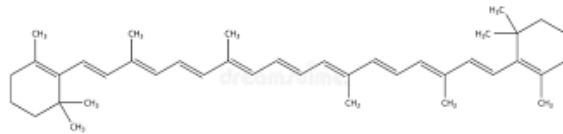


Figura 3 - β -caroteno

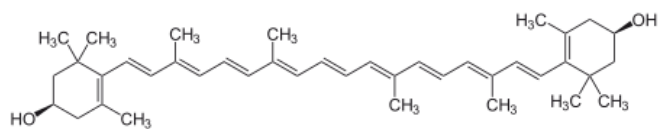


Figura 4 - Zeaxantina

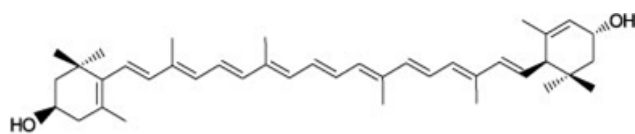


Figura 5 - Luteina

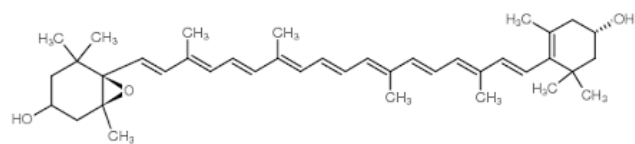


Figura 6 - Antheraxantina

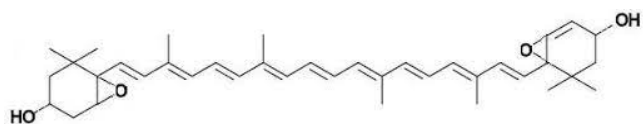


Figura 7 - Violaxantina

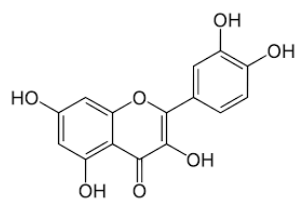


Figura 8 - Quercetina

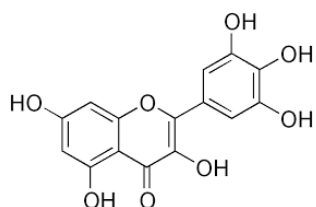


Figura 9 - Miricetina

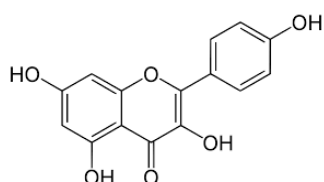


Figura 10 - Campferol

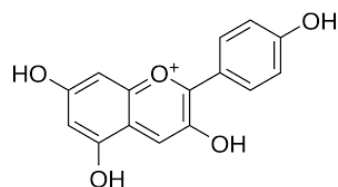


Figura 11 - Pelargonidina

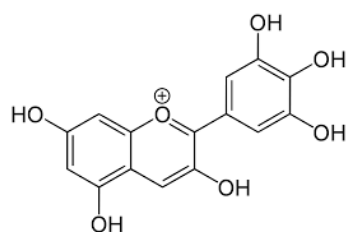


Figura 12 - Delfinidina

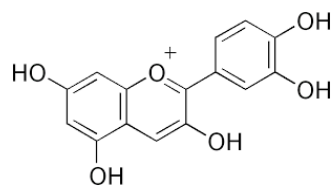


Figura 13 - Cianidina

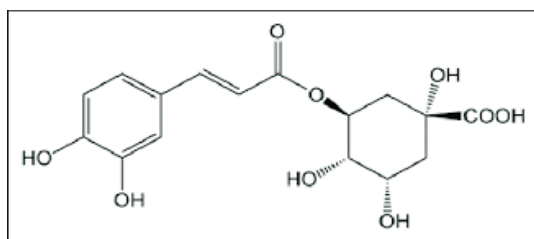


Figura 14 - Estrutura geral dos ácidos hidroxicinâmicos

Considerando o uso mundial espontâneo como PANC com base numa presunção de segurança percebida pelo consumidor e apoiada por informações publicadas, desenha-se um estudo de investigação preliminar-exploratória para avaliar pela primeira vez a aceitação de flores de *T. majus* numa dieta equilibrada adicionando-as em diferentes pratos, bem como os seus efeitos na composição corporal, parâmetros bioquímicos e hematológicos em voluntários saudáveis.

A uma amostra de conveniência a definir com limitações incontornáveis (em contexto pandémico), com o número de participantes possível, serão apresentadas receitas fáceis de executar com recurso a ingredientes de fácil acesso e adição de flores de capuchinha frescas. O estudo piloto terá como objetivo avaliar o impacto da ingestão diária da planta na alimentação, iniciando o estudo com recolha de opiniões individuais sobre aspeto, cor, odor, sabor e textura, fatores determinantes para a adesão ao consumo da capuchinha e inclusão da planta na alimentação diária.

Para sessões de degustação com vista à inclusão dos participantes os menus compostos por diversas opções serão previamente cozinhados, acondicionados em embalagens individuais próprias para alimentos com marca CE, e apresentados individualmente. O espaço de tempo entre a confeção e o consumo será monitorizado (< 10h), e meia hora após confecionadas as refeições serão conservados em frigorífico a temperatura de -8°C e transportadas em arca térmica para o local da prova, onde deverão ser consumidas sem aquecimento adicional. O questionário a apresentar

incluirá informação ou experiência e conhecimento prévio do indivíduo sobre o uso alimentar da capuchinha. Os parâmetros de prova basearam-se no aspeto, cor, odor sabor e textura.

No planeamento experimental deverão ser criadas condições para o material fresco ser conservado em arca frigorífica depois deste ser colhido no Ribatejo (loais georreferenciados anotados) em valados onde cresce de forma espontânea. Segue-se uma secagem controlada à temperatura ambiente e na ausência de luz direta e num espaço de tempo não superior a 72h entre a recolha e o início do processo congelação da planta (-20°C) para em embalagens individuais de 20 g. As opções de conservação estão fundamentadas em trabalhos publicados em que os autores concluíram que as propriedades físico-químicas se mantêm nessas condições.

Torna-se necessário esclarecer a ambiguidade benefício-risco do uso tradicional e atualmente disseminado da planta na alimentação humana. Será reavaliado o seu valor nutricional (documentado na literatura, mas que será confirmado com análise nutricional, e laboratório), estudadas as evidências de benefício/risco e aprofundadas as limitações da sua inclusão na alimentação.

Subsequentemente a este estudo, é importante que os consumidores sejam informados, pelo que a equipa de investigação deverá promover a divulgação dos resultados em diversos fora.

I.2. ESTADO DA ARTE

I.2.1. Popularização do uso como PANC

A Capuchinha é também conhecida como agrião-do-méxico, agrião grande-do-peru, Chagas, Flor-de-chagas, Chaguinhas, Chagueira, Mastruço-do-Perú ou Nastúrcio, é uma planta da ordem das Brassicales faz parte da Flora ibérica, espontânea em Portugal, provavelmente originária da Colômbia à Bolívia; naturalizada em muitos locais como EUA, Austrália, Europa e Macaronésia (Açores).

A espécie foi introduzida na Europa pelos jesuítas no século XVI, dando notícia da sua utilização culinária, tanto das folhas como das flores. É, portanto, de conhecimento público o seu uso tradicional alimentar, podendo através de qualquer

pesquisa na internet encontrar-se informação sobre os usos culinários em diversos sítios na internet:

- <http://www.matosdecomer.com.br/2016/11/temperos-e-condimentos-nao.html>
- https://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/economia/2018/04/30/internas_economia,677197/embrapa-pesquisa-pancs-como-capuchinha-e-mangarito.shtml

Descrita a flor e o pé com sabor picante semelhante ao agrião, com fruto também comestível semelhante a alcaparras, faz parte de inúmeras receitas que evidenciam o seu consumo generalizado, e.g.:

- <https://www.epagri.sc.gov.br/index.php/tag/pesto-de-capuchinha/>
- <http://www.epamig.br/download/cartilha-panc-capuchinha/?wpdmdl=6205&refresh=61885f649fd091636327268>

É classificada por empresa agropecuária no Brasil (EMBRAPA) como hortaliça folhosa convencional (Botrel et al., 2020). Vários estudos publicados basearam a avaliação do valor nutricional da Capuchinha, traduzidos na riqueza de oligoelementos (Botrel et al., 2020) até aos conteúdos em luteína e zeaxantina, vitamina C, carotenoides pró-vitamínicos A (β -criptoxantina e β -caroteno), flavonoides, antocianinas e sais minerais.

Neste contexto da classificação da Capuchinha como Planta Alimentar Não Convencional (PANC) confere-lhe o estatuto de alimento mais resistente às desordens climáticas e, portanto, cada vez mais importante para o nosso reconhecimento, apreciação e consumo.

Na perspetiva do livre consumo já atualmente considerado de domínio público para a capuchinha como PANC, não carece de avaliações e não se inclui no grupo de “todas as plantas que poderíamos consumir, mas não consumimos”, pois já não se enquadra no grupo das plantas que são Novos Alimentos, para introdução das quais no mercado é necessário que a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA - European Food Safety Authority) emita uma Opinião Científica sobre a sua Segurança.

Assim, na sua qualidade publicamente concedida de planta comestível não convencional (PANC), a *Tropaeolum majus* L. é apreciada por possuir elevada

quantidade de compostos bioativos e capacidade antioxidante demonstrada nos diversos estudos efetuados com as partes aéreas, na sua maioria as flores. Sabe-se que os seus compostos bioativos variam de acordo com a cor da flor, pois são maioritariamente: betacaroteno, zeaxantina, luteína e compostos fenólicos: quercetina, ácido gálico (Figura 15), antocianinas (Figura 16) e também ácido cafeico (Figura 17) e ácido p-cumárico (Figura 18).

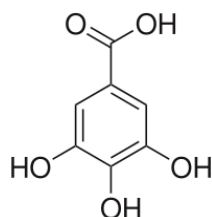


Figura 15 - Ácido gálico

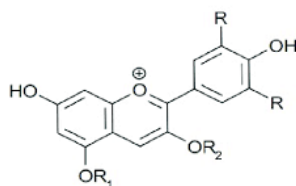


Figura 16 - Antocianinas

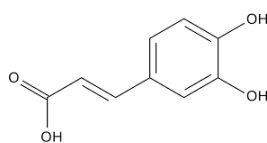


Figura 17 - Ácido cafeico

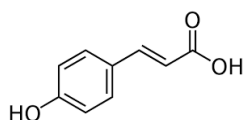


Figura 18 - Ácido p-cumárico

Conhece-se também algum do potencial das suas sementes. Sabe-se, contudo, muito pouco – nada publicado – sobre a adesão e efeitos da sua introdução numa dieta alimentar. Mas, sabe-se também, que a sua segurança como espécie edível está largamente documentada na literatura, com efeitos potencialmente indesejáveis descritos para ingestões de 750 mg/Kg de extratos hidroalcoólicos em animais.

1.2.2. Resumo de resultados prévios de investigações em animais

Foi realizada pesquisa bibliográfica exaustiva na SCOPUS, Web of Science e Web of Knowledge (B-on) com o objetivo de conhecer em detalhe todos os estudos prévios em animais que fundamentem o projeto de experimentação direta em humanos. Foram encontrados 4 estudos relevantes que a seguir se descrevem e comentam.

Estudo nº1. Khorsandi & Oroojan (2018), JBRA Assisted Reproduction, 22,174-179.

Objetivo

Avaliar a toxicidade do extrato hidroetanólico, obtido de *Tropaeolum majus* L. (TM) em tecido testicular de camundongo.

Método

Neste estudo experimental, usamos 32 camundongos NMRI machos. Os grupos experimentais receberam 75, 375 e 750 mg / kg de extrato de TM, respetivamente. Vinte e quatro horas após o último dia experimental, amostras de soro foram coletadas para dosagem hormonal. Em seguida, a cauda do epidídimo e testículo foram removidos para contagem de espermatozoides e avaliações histopatológicas.

Resultados

Os níveis séricos e testiculares de testosterona diminuíram em 750 mg / kg no grupo tratado quando comparados aos animais do controlo ($1,65 \pm 0,25$; $p = 0,041$ e $98,83 \pm 8,67$; $p = 0,034$ respetivamente). Os critérios histopatológicos, como vacuolização epitelial ($9,3 \pm 1,1$; $p = 0,034$), descamação ($4,3 \pm 0,4$; $p = 0,027$) e descolamento ($12,2 \pm 0,9$; $p = 0,031$) das células germinativas foram significativamente aumentados em 750 mg / kg nos camundongos tratados. Além

disso, não houve mudanças significativas nos critérios histopatológicos; O número de cabeças de esperma, a pontuação de Johnsen e as avaliações morfométricas foram realizadas nos camundongos tratados com 75 e 375 mg / kg. Na dose de 750 mg / kg, o diâmetro do túbulo seminífero ($193,2 \pm 4,6$; $p = 0,019$), a altura do epitélio seminífero ($139,2 \pm 5,1$; $p = 0,023$) e a paragem da maturação diminuíram significativamente neste grupo.

Conclusão

Em conclusão, o extrato hidroetanólico de TM tem efeitos tóxicos no tecido testicular de camundongos em altas doses. Portanto, recomenda cautela quanto ao seu consumo por pacientes com problemas reprodutivos.

Comentário: o extrato hidroetanólico concentra componentes orgânicos face a uma solução alimentar aquosa corrente de TM. Apesar de esse extrato ter produzido efeitos tóxicos no tecido testicular de animais em altas doses e de no presente projeto serem usadas as flores, e não as folhas (mais ricas em compostos fenólicos), considera-se critério de exclusão “homem em idade reprodutiva”. Note-se que mesmo considerando NOAEL = 375 mg/Kg, poder-se-ia propor uma Ingestão Diária Tolerável de 375 mg/Kg pc /100=3,75 mg/Kg pc/dia (cf. Renwick, 1998)

Estudo nº 2. Araújo et al., 2018, Journal of Medicinal Food, 21, 823-831.

Resumo: *T. majus* L., popularmente conhecida como capuchinha, é uma espécie amplamente utilizada na forma de infusões e saladas. Nos últimos anos, foram demonstradas as atividades anti-hipertensivas, diuréticas e poupadoras de cálcio e potássio das preparações de *T. majus*. Além disso, não foram realizados estudos pré-clínicos de toxicidade oral de 90 dias. Assim, este estudo avaliou a toxicidade do extrato hidroetanólico obtido das folhas de *T. majus* (HETM) em camundongos, ratos e coelhos fêmeas e machos. Camundongos suíços e ratos Wistar foram tratados com HETM (75, 375 e 750 mg / kg). As doses de coelhos (30, 150 e 300 mg / kg) foram calculadas por extrapolação alométrica. Os grupos de controlo receberam veículo. Os animais foram tratados por via oral, diariamente, durante 90 dias. No final, os animais foram anestesiados, e ganho de peso corporal, peso relativo do fígado, rim e baço, e as alterações histopatológicas foram avaliadas. Parâmetros

hematológicos e bioquímicos séricos também foram analisados. Não foram encontradas alterações no peso corporal e dos órgãos ou na avaliação histopatológica e bioquímica. As análises hematológicas revelaram pequenas alterações nas contagens de linfócitos e neutrófilos em ratos após a administração de 750 mg / kg de HETM. Esses resultados mostraram que o uso de *T. majus* durante 90 dias é seguro em roedores e lagomorfos.

Comentário: Em conclusão, apesar de este estudo ter sido baseado num extrato não aquoso, mas sim hidroetanólico, que por natureza concentra componentes orgânicos, menos hidrofílicos, os Promotores do presente estudo consideram um princípio precaucionário de gestão de risco excluir do estudo as folhas. As concentrações com efeito observado foram de 750 mg/Kg, o que poderia corresponder a uma ingestão diária de 45 g de extracto para indivíduo de 60 kg (não se sabendo o rendimento, não sabemos a que quantidade de planta corresponde, mas seguramente 45 g)

Estudo nº 3. Traesel et al., 2017, Journal of Medicinal Food, 20, 519-525.

Tropaeolum majus L. (Tropaeolaceae), comumente conhecida como nasturtium, é uma importante planta comestível nativa dos Estados Andinos e amplamente disseminada na América do Sul. Apesar do uso dessa espécie ser bastante difundido, não existem padrões mínimos de controlo de qualidade ou dados sobre sua genotoxicidade. Assim, o objetivo deste estudo foi apresentar um estudo anatômico e histoquímico detalhado para *Tropaeolum majus* e fornecer parâmetros de genotoxicidade de uma preparação usada rotineiramente em países sul-americanos. Primeiro, três diferentes extratos aquosos de *Tropaeolum majus* (TMAEs) nas concentrações de 1,5%, 7% e 15% foram preparados de acordo com o uso popular. Em seguida, a toxicidade genética do TMAE foi avaliada na mutação reversa bacteriana, lesões genómicas e formação de micronúcleos em ratos machos. Além disso, foi realizado um estudo anatômico e histoquímico detalhado das folhas e caules de *Tropaeolum majus*. Nenhuma colónia revertente foi encontrada em nenhuma cultura bacteriana examinada. No ensaio do cometa, o TMAE não mostrou danos significativos no ADN em todas as doses testadas. O ensaio de micronúcleos não

mostrou aumentos significativos na frequência de indução de micronúcleos em qualquer dose examinada. Imagens de microscopia óptica e eletrônica de seções transversais de folhas e caules de *Tropaeolum majus* revelaram características diagnósticas úteis. Os dados apresentados mostraram parâmetros de segurança significativos para o uso do TMAE e forneceram dados importantes para o controle de qualidade desta espécie vegetal.

Comentário: Este estudo baseado em extratos aquosos da planta (partes aéreas) é considerado o estado da arte mais próximo que fundamenta o uso seguro da flor e seu pedúnculo no presente projeto.

Estudo nº 4. Botelho Lourenço et al., 2017, Drug and Chemical Toxicology, 40, 281-285.

A prevalência do uso de medicamentos fitoterápicos está aumentando em todo o mundo, especialmente entre as mulheres grávidas. Um fato que chama a atenção é que muitas espécies comumente utilizadas por gestantes, incluindo *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae), também apresentam atividade inibitória da enzima conversora de angiotensina (ECA). Neste trabalho, investigamos os efeitos do extrato de *T. majus* (HETM- Extrato Hidroetanólico de TM) no desenvolvimento fetal, avaliando sua relação com a possível atividade inibitória da ECA. Ratos-fêmea Wistar grávidas foram tratadas com diferentes doses de HETM (3, 30 e 300 mg / kg / dia) de 8 a 20 dias de gestação. Os ratos foram sacrificados no dia 20 de gravidez e os seguintes parâmetros foram avaliados: sintomas clínicos de toxicidade materna; peso corporal materno; alimentação e ingestão de água; peso materno do fígado, rim e ovário, atividade materna da ECA e níveis de aldosterona, média de fetos vivos; percentagem de fetos mortos, peso do feto e malformação fetal. Todas as ratas grávidas tratadas com altas doses de HETM mostraram redução significativa na atividade plasmática da ECA acompanhada por uma diminuição nos níveis séricos de aldosterona. Além disso, foram observadas mudanças significativas no desenvolvimento fetal, incluindo retardo de crescimento e dano renal após 20 dias de gestação. Assim, os dados apresentados demonstram os efeitos significativos do uso de HETM (Extrato Hidroetanólico de TM) no desenvolvimento fetal durante a gravidez.

Comentário: As conclusões deste estudo fundamentam a exclusão por precaução de mulheres grávidas ou em fase de reprodução, apesar de os resultados dizerem respeito a ensaios com um extrato não aquoso, mas sim hidroetanólico. Adicionalmente, também não é claro no estudo se foram extraídas apenas as folhas ou a planta inteira.

II. PARTE EXPERIMENTAL

II.1. Material e Métodos

II.1.1. Material vegetal

Recolha de capuchinha para herbário ocorreu dia 12-julho - 2021

Latitude 38,955834

Longitude - 8,994359

Parque urbano Dr. Luis César Pereira

Hora: 14,40 h

Colheita manual efetuada por Maria da Graça Pereira Lopes Patrício Serrador (Investigadora Responsável do Estudo-IRE).

O número de registo é: LISU270425, depositado no Herbário LISU - Jardim Botânico/Herbarium LISU - Botanical Garden, R. da Escola Politécnica, 58 - 1250-102 LISBOA Portugal

II.1.2. Participantes

O estudo foi realizado com a participação voluntária de seis indivíduos saudáveis, de ambos os sexos (1 homem e 5 mulheres), com idades entre 21 e 71 anos (média $52,50 \pm 17,28$ anos). Todos os procedimentos observaram os princípios de boas práticas clínicas da Declaração de Helsinque e respetivas alterações (World Medical Association, 2013). Os voluntários foram incluídos no estudo após consentimento informado por escrito. Os documentos de legislação e normas sobre princípios éticos consultados e tidos como referência neste projeto são os seguintes, de conhecimento geral para os estudos clínicos com humanos:

- Declaração de Helsínquia - Declaração dos princípios éticos para a investigação clínica, incluindo investigação em material humano e dados identificáveis, elaborada pela Associação Médica Mundial. (cf. <https://www.ceic.pt/documents/20727/20842/Declara%C3%A7%C3%A3o+de+Hels%C3%ADnquia/12b041d0-847a-4d6e-9181-966e26c8923e>)
- The Belmont Report, que identifica princípios éticos básicos e diretrizes que tratam de questões éticas decorrentes da condução de pesquisas com seres humanos. Cf.: <https://www.hhs.gov/ohrp/regulations-and-policy/belmont-report/index.html>
- CPMP/ICH/135/95 - Note for Guidance on Good Clinical Practice (GCP) , an international ethical and scientific quality standard for designing, conducting, recording and reporting trials that involve the participation of human subjects
- ICH Harmonised Guideline - Integrated Addendum to ICH E6(R1): Guideline For Good Clinical Practice ICH - E6(R2)- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)
- Acesso aos dados pessoais de acordo com Lei 73/2015 de 27 de junho e Documento CEIC sobre o Regulamento Geral de Proteção de Dados (RGPD) no contexto da Investigação Clínica (cf. <https://www.ceic.pt/documentos-orientadores>), e
- Lei n.º 58/2019, de 8 de agosto, que Assegura a execução, na ordem jurídica nacional, do Regulamento (UE) 2016/679 do Parlamento e do Conselho, de 27 de abril de 2016, relativo à proteção das pessoas singulares no que diz respeito ao tratamento de dados pessoais e à livre circulação desses dados
- REGULAMENTO (UE) N.º 536/2014 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO
- de 16 de abril de 2014 relativo aos ensaios clínicos de medicamentos para uso humano e que revoga a Diretiva 2001/20/CE
- Critérios de desenho e elaboração do Protocolo de investigação de acordo com os requisitos previstos na lei 21/2014, versão consolidada, para "Outros Estudos Clínicos"

- Recomendação CEIC para a gestão dos "Achados Incidentais" no contexto da Investigação Clínica e em particular nos Ensaio Clínicos (<https://www.ceic.pt/documentos-orientadores>)
- Considerações CEIC sobre a Divulgação de Ensaio Clínicos: Princípios Orientadores (cf.: <https://www.ceic.pt/documents/20727/57550/Considera%C3%A7%C3%B5es+CEIC+sobre+a+Divulga%C3%A7%C3%A3o+de+Ensaio+Cl%C3%ADnicos+3Ago+2019/b1059cce-f785-4df6-a418-088e4670d554>)
- Documento INFARMED - Produtos-fronteira entre suplementos alimentares e medicamentos
- Ficheiro Resolução da Assembleia da República nº12001 - Convenção sobre os Direitos do Homem e a Biomedicina- Ratificação da Convenção para a proteção dos Direitos do Homem e da Dignidade do Ser Humano face às aplicações da Biologia e da Medicina: Convenção sobre os Direitos do Homem e a Biomedicina (apesar de não aplicável no eu objetivo específico, respeita-se o objetivo geral)
- Guidance on the Management of Clinical Trials during the Covid-19 (coronavirus) Pandemic- Guidance on the management of clinical trials during the Covid-19 (coronavirus) Pandemic - Version 4 - 04/02/2021 (cf. <https://www.ceic.pt/documents/20727/20842/Guidance+Covid+-+Version+4/cccb4168-d830-4d8e-b753-e5bcb1280ac8>)

Os seguintes critérios de exclusão foram considerados: (i) qualquer possibilidade de gravidez, (ii) homens em idade reprodutiva, (iii) qualquer doença pré-existente. Adicionalmente, os participantes preencheram um Formulário de consentimento informado em que informaram se fumavam, e se tomavam medicamentos e quais.

II.1.3. Procedimentos

Primeiramente, os voluntários selecionados de acordo com os critérios descritos acima foram detalhadamente informados sobre os objetivos, métodos e seu papel no projeto. Após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Informado (Anexo 2), foi feito Exame clínico (Anexo 1) prévio: Anamnese (por Médica de

Medicina Geral e Familiar, que faz parte da equipa de investigação desse estudo. Foram de seguida recolhidos dados de todos os participantes por meio da aplicação do Questionário de Frequência Alimentar (QFA) semiquantitativo, já validado para a população Portuguesa (Lopes et al., 2007), definindo uma porção média de referência consumida ao longo de um ano para todos os grupos de alimentos.

O questionário utilizado era composto por uma lista dos nutrientes pertencentes aos 7 grupos alimentares convencionais tabela/roda alimentar (PNPAS, 2022) e uma secção fechada com cinco categorias de frequências de consumo foram extraídos 12 itens de alta classificação (laticínios, peixes- gordurosos, magros e bacalhau-, brancos e tintos carne, azeite, pão integral e cereais, ovos, doces, verduras e legumes e frutas).

Em seguida, os voluntários receberam as receitas de preparação das refeições contendo flores de *T. majus*. A ingestão foi dividida em três refeições diárias (desjejum, almoço e jantar) na quantidade de 20 g de flores por dia, durante 30 dias. As refeições foram diversificadas, por exemplo, saladas, sopas, bolos, sanduíches, entre outros. Em dois pontos, um no momento zero (antes de iniciar o consumo de *T. majus*) e o outro no momento do fim do estudo, a composição corporal de todos os voluntários foi avaliada por absorciometria de raios-X de dupla energia (DXA Lunar Prodigy Advance - GE Healthcare, Chicago, Illinois, EUA). Os parâmetros medidos foram: Percentagem de Gordura Corporal (BFP), Tecido Adiposo Visceral (VAT) e Tecido Adiposo Subcutâneo (TAS). A frequência cardíaca e a pressão arterial também foram aferidas e amostras de sangue coletadas para análises clínicas de sangue e urina no Laboratório LEB (Lisboa, Portugal).

A aceitação prévia ao estudo e a adesão durante o estudo das flores de *T. majus* na dieta foram avaliadas por meio de questionários nos quais os voluntários descreveram as suas opiniões sobre aspetos visuais e gustativos das refeições preparadas. Fizeram parte do estudo de aceitação antes do ensaio as seguintes receitas: sopa, pastel de carne, assado, panado, bacalhau, arroz, sumo, tarte doce e gelatina, e os parâmetros questionados foram: i) já ouviu falar de plantas alimentares não convencionais? ii) Consome habitualmente PANC? iii) Já alguma vez tinha provado esta planta? Após provar, como a descreve? iv) Poderá utilizar os termos sugeridos para definir a perceção sobre os pratos: Aparência:

agradável/desagradável/outro; cor; odor: intenso/suave/outro; Sabor: amargo/doce/picante/outro; Textura: aveludado/granuloso/liquido/pastoso/outro.

Durante o estudo, foi inquirido para cada refeição: i) Gostou ou não da mistura? Justifique. ii) considera ou não poder vir a ser uma opção habitual na sua dieta? Justifique. Além disso, os voluntários foram contatados diariamente pelos pesquisadores para relatar se haviam comido toda a porção diária ou se havia sobras para quantificar (em colheres), e sua opinião sobre as refeições, bem como quaisquer efeitos indesejáveis / inesperados.

Os dados são relatados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM) e foram comparados pelo teste T usando o software GraphPadPrism 5® (software GraphPad, San Diego, CA, EUA). Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo em todas as experiências.

II.2. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

Objetivo Geral:

O estudo tem como objetivo avaliar de forma exploratória o impacto da ingestão diária de uma quantidade padrão (porção de 20 g), da planta na alimentação de voluntários humanos saudáveis acompanhados por 30 dias.

Objetivos Específicos:

1. obter pela primeira vez dados sobre a aceitação da ingestão diária através de recolha de opiniões individuais sobre aspeto, cor, odor, sabor e textura, fatores determinantes para a adesão ao consumo da capuchinha e inclusão da planta na alimentação diária.
2. obter pela primeira vez dados antes e após a ingestão, sobre composição corporal, frequência cardíaca, pressão arterial e parâmetros hematológicos e bioquímicos.
3. perceber se o desenho de estudo piloto /exploratório projetado tem ou não os resultados preliminares que corroborem as evidências da literatura sobre o uso seguro de flores e caules numa dieta balanceada e variada, a fim de se propor estudo mais robusto futuro.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma alimentação saudável e o controlo da obesidade foram identificados para a amostra do estudo (Tabela 1) com base em consumo de alimentos vegetais abundantes e variáveis, alto consumo de cereais, azeite de oliva como gordura principal, baixo consumo de carnes vermelhas e consumo nulo a moderado de vinho, com potencial risco reduzido de DCV e cancro (Giacosa et al., 2013).

Tabela 1 - Frequência de consumo alimentar dos participantes (continua nas páginas 19 e 20).

Item	Frequência do Consumo	Data/Dados
Nº refeições	por dia	3 (100)
Porção	por dia	(100)
Produtos lácteos	Nunca - 4x por ano > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	2 2 1 1
Peixe gordo	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	4 1 1
Peixe magro	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	4 1 1
Bacalhau	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	2 2 2

Item	Frequência do Consumo	Data/Dados
Carnes Brancas	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	3 1 2
Carne vermelha	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	4 1 1
Ovos	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	 1 2 3
Azeite	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	 3 3
Pão integral e cereais	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	 3 3
Doces	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	2 3 1
Hortaliças e Legumes	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês	

Item	Frequência do Consumo	Data/Dados
	1-3x por mês 11-6x por semana 1-3x por dia	1 5
Frutos	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	1 5
Vinho	Nunca - 4x por ano/ > 4x por ano, <1x por mês 1-3x por mês 1-6x por semana 1-3x por dia	4 2

Está bem descrito que o alto consumo de carne vermelha, ácidos gordos saturados e colesterol pode estar associado ao aumento do risco de diabetes, DCV e risco de mortalidade (Da Silva et al., 2018; Pereira da Silva et al., 2020) e a processos de neuroinflamação considerados a base de muitas condições neurodegenerativas (Virmani et al., 2013). Além disso, as dietas identificadas como protetoras da doença de Alzheimer foram associadas à maior ingestão de vegetais, frutas, grãos de cereal inteiros, peixes e legumes e com menor ingestão de laticínios com alto teor de gordura, carnes processadas e doces (Mosconi et al. 2014), e estudos epidemiológicos sugerem um papel das frutas e vegetais na proteção contra risco de doenças e envelhecimento (Virmani et al., 2013), razão pela qual a OMS considera que esses devem ser os principais alimentos a serem ingeridos (WHO & FAO Expert Consultation, 2003).

Todos os participantes relataram que as refeições preparadas com a porção diária de 20g de flores de *T. majus* tinham sabor agradável e nenhum abandonou o estudo. Além disso, nenhum voluntário relatou durante o contato diário com os investigadores responsáveis pelo estudo quaisquer alterações no número de evacuações e consistência das fezes, volume urinário ou qualquer outro desconforto ou alteração / sintoma inesperado durante o período de 30 dias de ingestão de flores

de *T. majus*, e num período de 2 semanas após a conclusão do estudo. Também não foram observadas alterações na frequência cardíaca e na pressão arterial (Tabela 2).

Tabela 2 - Pressão arterial (sístole e diástole, em milímetros de mercúrio – mmHg) e frequência cardíaca (pulso, em batimentos por minuto – bpm) dos voluntários no início e no final do estudo. A comparação estatística entre o início e o final do estudo dos três parâmetros utilizando o teste de Wilcoxon (R Core Team, 2016) mostra que não há diferenças significativas ($W = 9, 13$ e $13,5$, respetivamente, e $p\text{-Valor} > 0,05$ em todos os casos).

Voluntário	Início			Final		
	Sístole (mmHg)	Diástole (mmHg)	Pulso (bpm)	Sístole (mmHg)	Diástole (mmHg)	Pulso (bpm)
1	119	62	59	111	60	72
2	149	92	76	164	87	71
3	109	70	69	109	72	63
4	139	84	74	108	75	66
5	136	82	68	117	76	72
6	117	73	73	108	61	69
<i>Média</i>	128	71,8	69,8	120	77,2	69,8
<i>Desvio padrão</i>	15,4	10,1	6,11	22,1	10,9	6,11

Na análise dos parâmetros relacionados com a composição corporal não foi observada qualquer alteração na Percentagem de Gordura Corporal (PGC), Tecido Adiposo Visceral (TAV) e Tecido Adiposo Subcutâneo (TAS) (Figura 19).

Kim *et al.* (2017), mostraram em cultura de células (adipócitos 3T3-L1) que o extrato etanólico de *T. majus* diminuiu a acumulação de lípidos e inibiu a expressão do receptor γ ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR γ), proteínas de ligação de CCAAT / potenciador (CEBPs) e fator de transcrição de ligação a elemento regulador de estero1 (SREBF1), que são fatores de transcrição envolvidos na regulação da via adipogénica em adipócitos 3T3-L1. No presente estudo, não foi observado nenhum efeito sobre a acumulação de lípidos nos tecidos, nem uma redução significativa na taxa de conteúdo de trigliceridos no sangue resultante da ingestão de 20 g diários de flores de *T. majus*. Provavelmente o resultado pode estar relacionado com as diferenças nas condições experimentais pelo uso de flores inteiras em vez de um extrato, e considerando que este estudo não foi *in vitro*, mas sim *in vivo*

com voluntários saudáveis e, portanto, refletirá efeitos metabólicos e hemodinâmicos, entre outros.

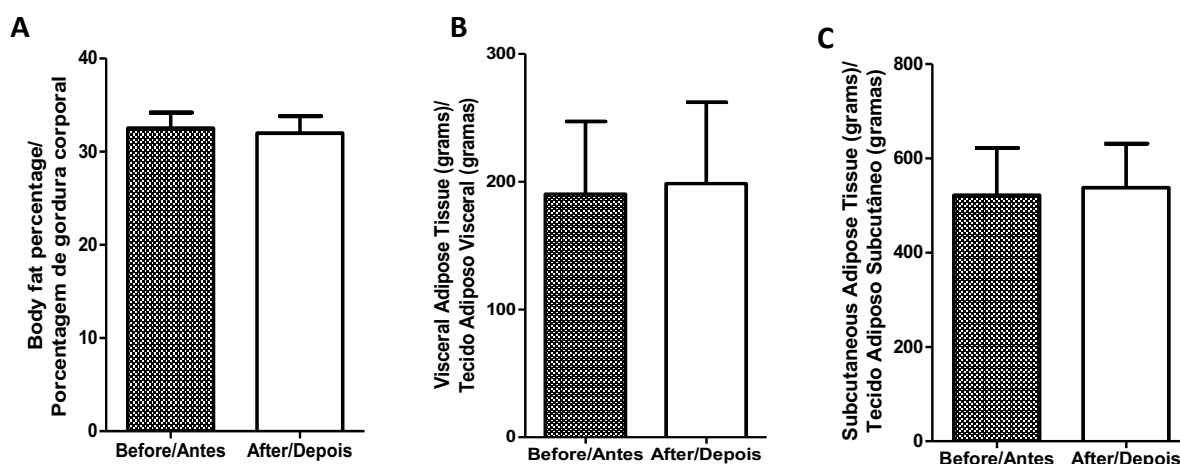


Figura 19 – Massa de gordura corporal antes e após a ingestão de refeições contendo flores de *T. majus* (20g/dia durante 30 dias). Os dados são expressos como média±DP. As comparações foram feitas pelo teste T.

Quando foram analisados os parâmetros hematológicos não foram encontradas alterações (Tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros hematológicos antes e após a ingestão de refeições contendo 20 g de flores de *T. majus* / diariamente por 30 dias (continua na página 23).

Parâmetros hematológicos	Antes	Depois	p-Valor
Eritrócitos ($10^6 / \text{mm}^3$)	4,32 ± 0,11	4,33 ± 0,14	0,951
Hemoglobina (g/dL)	13,41 ± 0,40	13,21 ± 0,43	0,743
Hematócrito (%)	39,68 ± 0,98	39,60 ± 1,13	0,954
Volume Corpuscular Médio (fL)	91,61 ± 0,98	91,38 ± 0,96	0,851
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	30,91 ± 0,42	30,50 ± 0,58	0,578
Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (g/dL)	33,73 ± 0,33	33,38 ± 0,35	0,490
Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos (%)	13,31 ± 0,33	13,43 ± 0,22	0,775

Parâmetros hematológicos	Antes	Depois	p-Valor
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	5,25 $\pm$ 0,52	6,01 $\pm$ 0,75	0,379
Neutrófilos (%)	51,21 $\pm$ 3,62	59,10 $\pm$ 3,99	0,175
Eosinófilos (%)	3,00 $\pm$ 0,59	3,06 $\pm$ 0,61	0,954
Basófilos (%)	0,85 $\pm$ 0,20	0,66 $\pm$ 0,10	0,436
Linfócitos (%)	38,81 $\pm$ 3,25	32,08 $\pm$ 3,25	0,174
Monócitos (%)	6,13 $\pm$ 0,22	5,58 $\pm$ 0,25	0,130
Plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$)	231,5 $\pm$ 15,84	228,0 $\pm$ 12,40	0,865
Velocidade de Hemossedimentação (mm/h)	5,67 $\pm$ 0,66	7,17 $\pm$ 1,10	0,273

Os dados são descritos como média $\pm$ erro padrão da média (SEM) e foram comparados pelo teste T de *student*.

Da mesma forma, quando avaliamos os parâmetros bioquímicos séricos usados para avaliar a função hepática, renal, pâncreas e metabólica, nenhuma alteração foi observada nos voluntários (Tabela 4).

Tabela 4 - Parâmetros bioquímicos antes e após a ingestão de refeições contendo 20 g de flores de *T. majus* / diariamente durante 30 dias (continua na página 24).

Parâmetros Bioquímicos	Antes	Depois	p-Valor
Ácido Úrico Sérico (mg/dL)	8,85 $\pm$ 4,83	3,95 $\pm$ 0,40	0,339
Creatinina Sérica (mg/dL)	0,73 $\pm$ 0,03	0,75 $\pm$ 0,04	0,718
Colesterol (mg/dL)	209,66 $\pm$ 15,64	210,16 $\pm$ 14,05	0,981
Colesterol HDL (mg/dL)	69,5 $\pm$ 2,30	66,66 $\pm$ 3,02	0,474
Triglicerídeos (mg/dL)	56,66 $\pm$ 7,03	74,50 $\pm$ 16,97	0,366
Alanina Aminotransferase (ALT), (U/L)	16,00 $\pm$ 1,06	15,33 $\pm$ 1,38	0,710
Aspartato Aminotransferase (AST) (U/L)	19,66 $\pm$ 1,47	17,50 $\pm$ 0,61	0,206

Parâmetros Bioquímicos	Antes	Depois	p-Valor
Gamaglutamiltransferase (GGT), (U/L)	18,50 ± 1,52	21,00 ± 1,50	0,270
Glicemia (mg/dL)	84,00 ± 5.10	79,83 ± 6,05	0,611
Hemoglobina Glicada (HbA1c) (%)	5,40 ± 0.06%	5,43 ± 0.08	0,758
Proteína C-reativa (PCR) (mg/dL)	1,18 ± 0.16	0,73 ± 0.04	*p<0,05

Os dados são relatados como média ± erro padrão da média (SEM) e foram comparados utilizando o teste T de *Student*.

A ausência de toxicidade de extratos de *T. majus* foi demonstrada por Araújo *et al.* (2018), num estudo pré-clínico usando extrato hidroetanólico por 90 dias em roedores e lagomorfos.

No presente trabalho, não foi detetada qualquer alteração nos parâmetros renais, como uréia sérica e creatinina sérica, tal como descrito anteriormente por Gasparoto Junior *et al.* (2012), utilizando extrato etanólico de *T. majus* e seu principal composto, a isoquercetina.

Por outro lado, quando analisamos no presente estudo outros biomarcadores, como a Proteína C Reativa (CRP), foi inesperadamente observada uma diminuição significativa após a adição de flores de *T. majus* na dieta (Tabela 4) de 1,18 ± 0,16 mg / dL para 0,73 ± 0,04 mg / dL na faixa de níveis saudáveis. Na verdade, a PCR é uma proteína de fase aguda que tem sido associada à resposta a lesões e inflamação sistêmica (Yao *et al.*, 2019).

Atualmente, inúmeros estudos epidemiológicos têm mostrado uma associação consistente entre o risco de doenças cardiovasculares e as concentrações de PCR. A PCR pode estar envolvida em todos os estágios influenciando diretamente o processo aterosclerótico, como apoptose, ativação do complemento, recrutamento de monócitos, ativação de células vasculares, trombose e acumulação de lípidos (Avan *et al.*, 2018). *T. majus* contém uma variedade de compostos bioativos que também são conhecidos por sua potência antiinflamatória, incluindo flavonóides, carotenóides e outros polifenólicos. Tran *et al.* (2016), demonstraram que extratos aquosos de *T. majus* exerceram forte supressão dependente da concentração da liberação de TNF-alfa desencadeada por LPS e sinalização da via COX, incluindo a síntese de PGE2.

Além disso, *T. majus* é rica em ácidos gordos anti-inflamatórios e glucosinolatos (Platz et al., 2016), como a glucotropaeolina (Figura 20), que são termoestáveis e possuem atividades anticancerígenas. Assim, a monitorização da PCR antes e após a ingestão de *T. majus* por um período maior de tempo e para um grupo mais representativo de voluntários humanos pode contribuir para aprofundar a razão dessa observação no estudo.

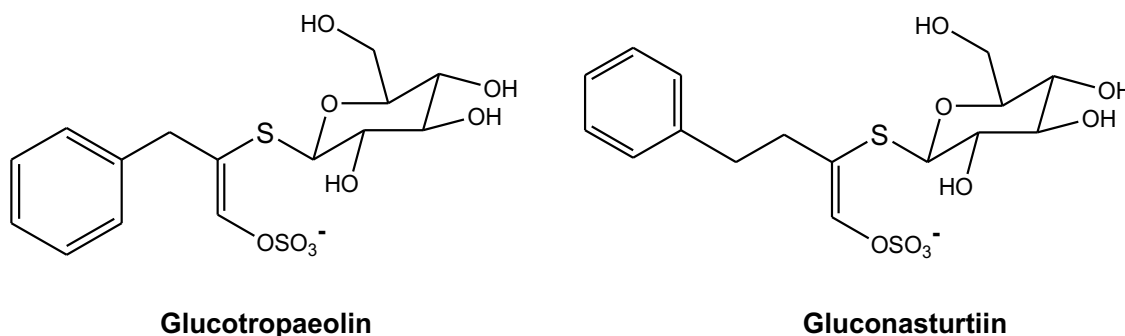


Figura 20 – Marcadores de sabor e odor característicos de crucíferas benzilglucosinolato (glucotropaeolina) presente em *Tropaelum majus* (capuchinha) e fenetilglucosinolato (gluconasturtiina) presente em *Nasturtium officinale* R.Br. (agrião) (Breme et al., 2007).

Estima-se que existam cerca de 27 mil espécies de plantas com potencial alimentar no mundo, porém, estima-se que apenas 103 espécies de plantas sejam responsáveis por 90% do abastecimento alimentar mundial (Leal et al., 2018). Portanto, há um grande número de espécies com potencial alimentar que são negligenciadas. Muitas foram consumidas no passado, mas com os processos de industrialização e urbanização, o seu uso foi abandonado. Nos últimos anos várias destas espécies têm-se destacado como UFP/ PANC pelo seu alto impacto em países latino- e ibero-americanos, nomeadamente Brasil e Portugal e o *T. majus* é uma delas (Mazon et al., 2020). Assim, os estudos sobre sua aceitação e segurança em relação ao valor nutricional são importantes para entender qualquer relação benefício / risco do seu uso na dieta humana.

No contexto da globalização, a "Estratégia da Fazenda à Mesa" está no cerne do Acordo Verde Europeu com o objetivo de tornar os sistemas alimentares justos, saudáveis, ecologicamente corretos e a transição global para um sistema alimentar

sustentável que deve ter um ambiente neutro ou impacto ambiental positivo, ajudar a mitigar as mudanças climáticas e seus impactos, reverter a perda de biodiversidade, garantir a segurança alimentar, nutricional e saúde pública, garantindo que todos tenham acesso a alimentos suficientes, seguros, nutritivos e sustentáveis. O papel das PANCs neste caminho é indiscutível, mas aumentar a adoção de dietas saudáveis e sustentáveis não significa aderir a todas as PANCs oferecidas e disponíveis sem critérios. A dieta Mediterrânica é amplamente estudada como uma dieta saudável - caracterizada pela ingestão de pequena a moderada quantidade de alimentos de origem animal onde prevalece a carne branca - e foi um dos temas de um evento conjunto de autoridades e interessados (United Nations, 2021) devido ao crescimento interesse por dietas à base de vegetais que tem sua expressão máxima no vegetarianismo e no veganismo. Assim, a necessidade de antecipar os riscos emergentes para o consumo de flores comestíveis foi trazida para a agenda da EFSA (Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos). A garantia de informação clara é uma exigência do consumidor que deve unir universidades / investigadores e autoridades, aplicando a abordagem “Qualified Presumption of Safety (QPS)” para a avaliação da segurança de produtos botânicos e preparações botânicas publicada pela EFSA (EFSA Scientific Committee, 2014).

A EFSA foi questionada muito recentemente pela Comissão Europeia se existem objecções de segurança devidamente fundamentadas à colocação no mercado de flores secas de *Clitoria ternatea* L. como Alimento Tradicional (AT) de países terceiros (um país que não pertence à União Europeia, cf. Glossário In: https://www.institutocamoes.pt/images/stories/tecnicas_comunicacao_em_portugues/portugues_institucional_e_comunitario/Breve%20glossario%20de%20termos%20comunitarios.pdf) conhecido como ervilha borboleta de um país terceiro da União Europeia. A EFSA observou os efeitos hemolíticos e citotóxicos *in vitro* relatados para algumas ciclotidos, bem como dados que indicam possíveis efeitos no sistema imunológico e no útero para uma ciclotida (embora não detectados em *Clitoria ternatea*). Além disso, existem apenas dados limitados disponíveis sobre a digestibilidade, biodisponibilidade, toxicocinética e possíveis efeitos toxicológicos *in vivo* de ciclotidos, incluindo alguns dos presentes, embora sem efeitos adversos aparentes à saúde. Dada a potencial exposição a ciclotidos resultante do uso pretendido para a preparação de infusões de ervas e o perfil toxicológico

desconhecido dos ciclotidos presentes nessas flores comestíveis, a EFSA considera que o Alimento Tradicional pode representar um risco de segurança para a saúde humana. Assim, a EFSA levanta objeções de segurança à colocação no mercado da UE do Alimento Tradicional (flores secas de *Clitoria ternatea* L.)

No caso de *T. majus*, aplica-se a priori a orientação da EFSA para a avaliação da segurança de produtos botânicos e preparações botânicas destinadas ao uso como ingredientes em suplementos alimentares (EFSA, 2022), que prevê que produtos botânicos ou preparações botânicas para os quais um corpo de conhecimento adequado existe poderia se beneficiar de uma “presunção de segurança” sem a necessidade de mais testes. Além disso, sob a abordagem QPS, algumas preparações botânicas de *T. majus* foram associadas a efeitos adversos quando administradas como concentrados alcoólicos em certas doses, mas os compostos responsáveis não foram identificados. Nesta situação, pode-se basear a decisão QPS nos dados disponíveis sobre o histórico de uso seguro em níveis de exposição tradicionais habituais, ou seja, os dados seguros para extratos aquosos de *T. majus*, uma vez que os efeitos adversos relatados ocorreram em níveis de uso não tradicionais (Figura 21). Se tais dados não fossem claramente conhecidos, a *T. majus* deveria ser excluída da abordagem QPS e totalmente estudada quanto à qualidade e segurança, com definição clara dos níveis de ingestão diária toleráveis.

No caso particular das flores de *T. majus*, há evidências da segurança aceitável de seu uso como ingrediente ou suplemento dietético nas refeições diárias, bem apoiadas por estudos de extratos aquosos em animais e aqui em humanos pela primeira vez.

Por fim, é importante destacar que por se tratar de um estudo preliminar-exploratório, existem algumas limitações neste: 1) o número limitado de participantes (seis); 2) a distribuição heterogênea de sexo e idade dos participantes; 3) a inexistência de um grupo de controlo e 4) um tratamento incompleto de dados, que se considerou suficiente para os objetivos deste estudo, após aplicação do Questionário de Frequência Alimentar que não incluiu qualquer estimativa da ingestão de energia e nutrientes, embora a frequência de consumo e o tamanho da porção do alimento tenham sido avaliados.

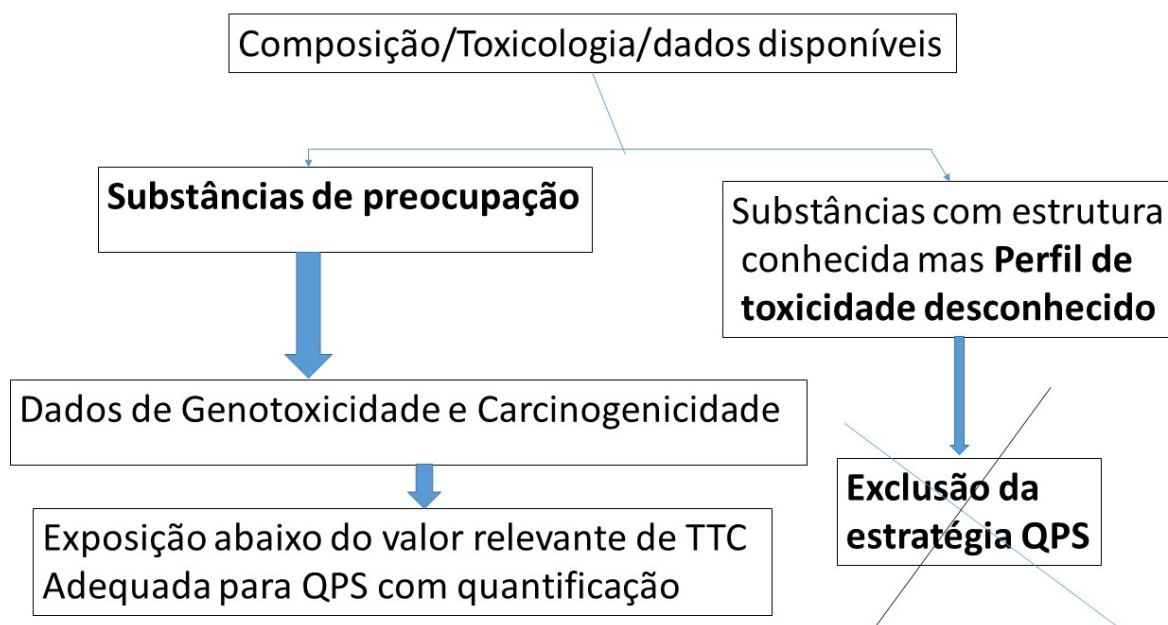


Figura 21 – De acordo com a diretriz da EFSA (2022), pode ser considerado um nível seguro de ingestão para definir a presunção de segurança com base na Qualidade – QPS.

De acordo com a árvore de decisão apresentada na Figura 21, se não estiverem disponíveis valores de orientação para a(s) substância(s) com limiar preocupante(s) com um MoA conhecido baseados em efeitos conhecidos na saúde, ou com base em dados de toxicidade que permitam definir um nível seguro de ingestão, pode-se aplicar o conceito TTC (EFSA Scientific Committee, 2019) para definir uma qualificação de exposição a ser associada para o *status* QPS. A aplicação da abordagem TTC requer que seja definida a estrutura química da(s) substância(s) com perfil de toxicidade desconhecido. Subsequentemente, torna-se aceitável definir o limite de exposição para o qual o *status* de QPS é válido.

IV. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que as flores de *T. majus* são bem aceites quando adicionadas em diferentes refeições e corroboram a informação na literatura sobre o seu uso ser seguro para humanos. Este é o primeiro estudo exploratório

referindo a segurança do consumo de flores de *T. majus* em humanos saudáveis, no entanto, são importantes estudos adicionais mais completos para confirmar nossos resultados em um número maior de voluntários e com um grupo de controlo.

A reflexão que este estudo proporcionou conduz a recomendações precaucionarias sobre a introdução de outras artes que não a flor na prática culinária e, em particular, a preparações alcoólicas. Uma vez que existem avisos na literatura sobre potenciais preocupações adicionais relacionadas com os efeitos reprodutivos dos extratos de etanol, é pertinente concluir que devem ser realizadas pesquisas adicionais em busca de uma substância ou grupo de substâncias para as quais um valor limite ainda não foi definido relacionado com os efeitos observáveis na saúde. Tendo em consideração que os dados existentes de qualidade e toxicidade são insuficientes para derivar tal valor, e os concentrados de *T. majus* obtidos em álcool não são adequados para uso alimentar irrestrito, a avaliação de segurança de *T. majus* deve ser desenvolvida para os seus vários extratos. Com estes pressupostos e tendo como referenciais as orientações da EFSA, uma conclusão sobre a segurança da espécie botânica *T. majus* ainda não é possível porque qualquer lista de critérios de avaliação da sua segurança com base na sua constituição, o que abreviadamente se pode designar QPS, só pode ser no momento atual aplicada a extratos aquosos específicos.

V. Conflito de interesses

A autora declara não haver relações financeiras e / ou pessoais que possam representar potencial conflito de interesses.

VI. Referências

- Araújo, V., Andreotti, C., Reis, M., de Lima, D., Pauli, K., & Nunes, B. et al. (2018). 90-Day Oral Toxicity Assessment of *Tropaeolum majus* L. in Rodents and Lagomorphs. *Journal Of Medicinal Food*, 21(8), 823-831. doi: 10.1089/jmf.2017.0128
- Avan, A., Tavakoly Sany, S., Ghayour-Mobarhan, M., Rahimi, H., Tajfard, M., & Ferns, G. (2018). Serum C-reactive protein in the prediction of cardiovascular diseases: Overview of the latest clinical studies and public health practice. *Journal Of Cellular Physiology*, 233(11), 8508-8525. doi: 10.1002/jcp.26791
- Barboza, L., Prando, T., Dalsenter, P., Gasparotto, F., Gasparotto, F., & Jacomassi, E. et al. (2014). Prolonged Diuretic Activity and Calcium-Sparing Effect of *Tropaeolum majus*: Evidence in the Prevention of Osteoporosis. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2014, 1-6. doi: 10.1155/2014/958291
- Botelho Lourenco, E. L., Lima Ribeiro, R. D. C., Araujo, V. D. O., Martino-Andrade, A. J., Dalsenter, P. R., & Gasparotto, A. (2017). Fetopathies associated with exposure to angiotensin converting enzyme inhibitor from *Tropaeolum majus* L. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(3), 281-285. doi: [10.1080/01480545.2016.1212366](https://doi.org/10.1080/01480545.2016.1212366)
- Botrel, N., Freitas, S., Fonseca, M. J. D. O., Melo, R. A. D. C., & Madeira, N. (2020). Nutritional value of unconventional leafy vegetables grown in the Cerrado Biome/Brazil. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23. doi: [10.1590/1981-6723.17418](https://doi.org/10.1590/1981-6723.17418)
- Breme K, Fernandez X, Meierhenrich UJ, Brevard H, Joulain D. Identification of new, odor-active thiocarbamates in cress extracts and structure-activity studies on synthesized homologues. *J Agric Food Chem*. 2007 Mar 7;55(5):1932-8. doi: 10.1021/jf062856e. Epub 2007 Feb 2. PMID: 17269787
- Da Silva, A., Valente, A., Chaves, C., Matos, A., Gil, A., & Santos, A. et al. (2018). Characterization of Portuguese Centenarian Eating Habits, Nutritional Biomarkers, and Cardiovascular Risk: A Case Control Study. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2018, 1-10. doi: 10.1155/2018/5296168

- Dujmović, M., Radman, S., Opačić, N., Fabek Uher, S., Mikuličin, V., Voća, S., & Šić Žlabur, J. (2022). Edible Flower Species as a Promising Source of Specialized Metabolites. *Plants*, 11(19), 2529. doi: [10.3390/plants11192529](https://doi.org/10.3390/plants11192529)
- EFSA (2022). Notification of dried flowers of *Clitoria ternatea* L. as a traditional food from a third country pursuant to Article 14 of Regulation (EU) 2015/2283. EFSA supporting publication, EN-7084. 17pp. doi:10.2903/sp.efsa.2022
- EFSA Scientific Committee (2014) Scientific Opinion on a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for the safety assessment of botanicals and botanical preparations. *EFSA Journal*, 12(3). doi: 10.2903/j.efsa.2014.3593
- EFSA Scientific Committee (2019) Guidance on the use of the Threshold of Toxicological Concern approach in food safety assessment. *EFSA Journal*, 17(6), e05708, 17 pp. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5708
- Fukalova, T. F., Martínez, M. D. G., & Raigón, M. D. (2021). Five undervalued edible species inherent to autumn-winter season: nutritional composition, bioactive constituents and volatiles profile. *PeerJ*, 9, e12488. doi: [10.7717/peerj.12488](https://doi.org/10.7717/peerj.12488)
- Garzón, G., & Wrolstad, R. (2009). Major anthocyanins and antioxidant activity of Nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*). *Food Chemistry*, 114(1), 44-49. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.013
- Gasparotto Junior, A., Gasparotto, F., Lourenço, E., Crestani, S., Stefanello, M., & Salvador, M. et al. (2011). Antihypertensive effects of isoquercitrin and extracts from *Tropaeolum majus* L.: Evidence for the inhibition of angiotensin converting enzyme. *Journal Of Ethnopharmacology*, 134(2), 363-372. doi: 10.1016/j.jep.2010.12.026
- GBIF (2021) *Tropaeolum majus* L. (2021). Retrieved 7 December 2021, from <https://www.gbif.org/species/2889934>
- Giacosa, A., Barale, R., Bavaresco, L., Gatenby, P., Gerbi, V., & Janssens, J. et al. (2013). Cancer prevention in Europe. *European Journal Of Cancer Prevention*, 22(1), 90-95. doi: 10.1097/cej.0b013e328354d2d7
- Gomes, C., Lourenço, E., Liuti, É., Duque, A., Nihi, F., & Lourenço, A. et al. (2012). Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats. *Journal Of Ethnopharmacology*, 142(2), 481-487. doi: 10.1016/j.jep.2012.05.023

- Jakubczyk, K., Janda, K., Watychowicz, K., Łukasiak, J., & Wolska, J. (2018). Garden nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) - a source of mineral elements and bioactive compounds. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 69(2), 119-126.
- Khorsandi, L., & Oroojan, A. (2018). Toxic effect of *Tropaeolum majus* L. leaves on spermatogenesis in mice. *JBRA Assisted Reproduction*. doi: 10.5935/1518-0557.20180035
- Kim, G., Kim, J., Kim, G., & Choi, S. (2017). Anti-adipogenic effects of *Tropaeolum majus* (nasturtium) ethanol extract on 3T3-L1 cells. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1339555. doi: 10.1080/16546628.2017.1339555
- Koriem, K., Arbid, M., & El-Gendy, N. (2010). The protective role of *Tropaeolum majus* on blood and liver toxicity induced by diethyl maleate in rats. *Toxicology Mechanisms And Methods*, 20(9), 579-586. doi: 10.3109/15376516.2010.518171
- Leal, M., Alves, R., & Hanazaki, N. (2018). Knowledge, use, and disuse of unconventional food plants. *Journal Of Ethnobiology And Ethnomedicine*, 14(1), 1-9. doi: 10.1186/s13002-018-0209-8
- Lopes, C., Aro, A., Azevedo, A., Ramos, E., & Barros, H. (2007). Intake and Adipose Tissue Composition of Fatty Acids and Risk of Myocardial Infarction in a Male Portuguese Community Sample. *Journal of the American Dietetic Association*, 107(2), 276–286. doi: 10.1016/j.jada.2006.11.008
- Mazon, S., Menin, D., Cella, B., Lise, C., Vargas, T., & Daltoé, M. (2020). Exploring consumers' knowledge and perceptions of unconventional food plants: case study of addition of *Pereskia aculeata* Miller to ice cream. *Food Science And Technology*, 40(1), 215-221. doi: 10.1590/fst.39218
- Mlcek, J., & Rop, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants – A new source of nutraceutical foods. *Trends In Food Science & Technology*, 22(10), 561-569. doi: 10.1016/j.tifs.2011.04.006
- Mlcek, J., Plaskova, A., Jurikova, T., Sochor, J., Baron, M., & Ercisli, S. (2021). Chemical, Nutritional and Sensory Characteristics of Six Ornamental Edible Flowers Species. *Foods*, 10(9), 2053. doi: [10.3390/foods10092053](https://doi.org/10.3390/foods10092053)
- Mosconi, L., Murray, J., Davies, M., Williams, S., Pirraglia, E., & Spector, N. et al. (2014). Nutrient intake and brain biomarkers of Alzheimer's disease in at-risk cognitively normal individuals: a cross-sectional neuroimaging pilot study. *BMJ Open*, 4(6), e004850-e004850. doi: 10.1136/bmjopen-2014-004850

- Navarro-González, I., González-Barrio, R., García-Valverde, V., Bautista-Ortín, A., & Periago, M. (2014). Nutritional Composition and Antioxidant Capacity in Edible Flowers: Characterisation of Phenolic Compounds by HPLC-DAD-ESI/MSn. *International Journal Of Molecular Sciences*, 16(1), 805-822. doi: 10.3390/ijms16010805
- Niizu, P., & Rodriguez-Amaya, D. (2006). Flowers and Leaves of *Tropaeolum majus* L. as Rich Sources of Lutein. *Journal Of Food Science*, 70(9), S605-S609. doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb08336.x
- Pereira da Silva, A., Costa, M., Aguiar, L., Matos, A., Gil, Â., & Gorjão-Clara, J. et al. (2020). Impact on Longevity of Genetic Cardiovascular Risk and Lifestyle including Red Meat Consumption. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2020, 1-14. doi: 10.1155/2020/1305413
- PIER (2021) *Tropaeolum majus*: info from PIER (PIER species info). Retrieved 7 December 2021, from http://www.hear.org/pier/species/tropaeolum_majus.htm
- Platz, S., Kühn, C., Schiess, S., Schreiner, M., Kemper, M., Pivovarova, O., ... & Rohn, S. (2016). Bioavailability and metabolism of benzyl glucosinolate in humans consuming Indian cress (*Tropaeolum majus* L.). *Molecular nutrition & food research*, 60(3), 652-660. doi: [10.1002/mnfr.201500633](https://doi.org/10.1002/mnfr.201500633)
- PNPAS (2022). Roda dos Alimentos, Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável da Direção-Geral da Saúde (PNPAS). Retrieved 2 January 2022, from <https://alimentacaosaudavel.dgs.pt/roda-dos-alimentos/>
- Queiroz, M.C.S, Barros, E.L., Antunes, N.L., Garcia, R.I.D., Kunigk, M. R. G., Rapopor, P.B. (2009) Adrenoleucodistrofia: Relato de Caso e Aspetos Relevantes ao Otorrinolaringologista Adrenoleukodystrophy: Case Report and Aspects Relevant to the Otorhinolaryngologist *Arq. Int. Otorrinolaringol. / Intl. Arch. Otorhinolaryngol.*, São Paulo, v.13, n.3, p. 322-325, 2009.
- R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/>.
- Renwick, A. G. (1998). Toxicokinetics in infants and children in relation to the ADI and TDI. *Food Additives & Contaminants*, 15(S1), 17-35. doi: [10.1080/02652039809374612](https://doi.org/10.1080/02652039809374612)
- Traesel, G., Machado, C., Tirloni, C., Menetrier, J., dos Reis Lívero, F., & Lourenço, E. et al. (2017). Safety Assessment and Botanical Standardization of an Edible

- Species from South America. *Journal of Medicinal Food*, 20(5), 519-525. doi: 10.1089/jmf.2016.0143
- Tran, H., Márton, M., Herz, C., Maul, R., Baldermann, S., Schreiner, M., & Lamy, E. (2016). Nasturtium (Indian cress, *Tropaeolum majus* nanum) dually blocks the COX and LOX pathway in primary human immune cells. *Phytomedicine*, 23(6), 611-620. doi: 10.1016/j.phymed.2016.02.025
- United Nations (2021) The European Green Deal: opportunities to anticipate and address emerging risks. Food Systems Summit 2021. Retrieved 2 January 2022, from <https://summitdialogues.org/dialogue/18790>
- Virmani, A., Pinto, L., Binienda, Z., & Ali, S. (2013). Food, Nutrigenomics, and Neurodegeneration—Neuroprotection by What You Eat!. *Molecular Neurobiology*, 48(2), 353-362. doi: 10.1007/s12035-013-8498-3
- WHO & FAO Expert Consultation (2003) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. World Health Organization Technical Report Series, vol. 916, 1–149. ISSN 0512-3054
- World Medical Association (2013) World medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*, 310(20), 2191-2194. doi: 10.1001/jama.2013.281053
- Yao, Z., Zhang, Y., & Wu, H. (2019). Regulation of C-reactive protein conformation in inflammation. *Inflammation Research*, 68(10), 815-823. doi: 10.1007/s00011-019-01269-1

Anexo 1

Faculdade Lusófona-Lisboa

Mestrado em Produtos de Saúde e Suplementos Alimentares

Maria da Graça Pereira Lopes

Formulário A - Ficha de Anamnese e Registos Clínicos

Mestrado em Produtos de Saúde e Suplementos Alimentares

Preponente: Maria da Graça Pereira Lopes

Investigador do projeto: Prof. Sérgio Falconi

Co-orientadora do projeto: Prof. Maria do Céu Costa

Supervisão Médica Dr. Alda Pereira da Silva

Planta em estudo: *Tropaeolum majus* L.

Partes da planta estudadas: flor e pedúnculo

Anamense

Nome_____

Data de nascimento_____ Idade_____

Sexo_____ Altura_____ Raça_____

Email_____

História Clínica

História pregressa

História familiar

Faculdade Lusófona-Lisboa

Mestrado em Produtos de Saúde e Suplementos Alimentares

Maria da Graça Pereira Lopes

Formulário A - Ficha de Anamnese e Registos Clínicos

Patologias:

Hipertensão

Diabetes

Hipotireoidismo

Hipertireoidismo

Renal cardíaco

Cancro

Dislipidemia

Osteoporose

Gastrite

Asma

Bronquite

Rinite

Circulatório

Enxaqueca

Uso de medicamentos?

Quais?

Sofre de ansiedade?

Depressão?

Irritabilidade?

Faculdade Lusófona-Lisboa

Mestrado em Produtos de Saúde e Suplementos Alimentares

Maria da Graça Pereira Lopes

Formulário A - Ficha de Anamnese e Registos Clínicos

Exames complementares:

Medição da T.A.

Peso:

IMC

IMG

IMM

Altura:

Exames complementares:

Análises clínicas

Hemograma

VS

PCR

TGP

Gama GT

TGO

Glicémia

Hemoglobina Glicosilada 1c

Ácido úrico

Creatinina

Colesterol Total

HDL e triglicéridos

Faculdade Lusófona-Lisboa

Mestrado em Produtos de Saúde e Suplementos Alimentares

Maria da Graça Pereira Lopes

Formulário A - Ficha de Anamnese e Registos Clínicos

T4, TSH livre

Urina tipo II

Observações

Descrição das máquinas usadas na obtenção de dados

Descrição de ocorrências

Lisboa_____/_____/_____

O Médico_____

Anexo 2

ECTS - Universidade Lusófona-Lisboa

Mestrado em Produtos de Saúde e Suplementos Alimentares

Preponente: Maria da Graça Pereira Lopes

Planta em estudo: *Tropaeolum majus* L.

Partes da planta estudadas: flor e pedúnculo

Formulário B

de Consentimento e Monitorização

Local de fornecimento da planta: Campus da Universidade Lusófona de Lisboa

Início do Processo: TBD

Registo diário da experiência para controlo diário da ingestão de capuchinha

Fornecer aos voluntários do projeto um menu de orientação anexo, para a confeção de capuchinhas.

Modo de verificação de registo de dados: *Contacto telefónico diário* DA INVESTIGADORA com o(a)s participantes do estudo para MONITORIZAR a ingestão e preenchimento do formulário

Nome d(a)o voluntári(a)o:

Dia:

Hora:

Ingeriu as 20g de capuchinha? Sim ☐; Não ☐

Se não ingeriu justifique o motivo:

Usou o menu proposto para o efeito?

Se não usou o menu descreva o motivo:

Comeu toda a porção? Sim ☐; Não ☐

Deixou sobras? Sim ☐; Não ☐

Se SIM, que quantidade (colheradas) sobrou? _____

Porquê? Consegue pesar?

Gostou do prato? Sim ☐; Não ☐

Se NÃO, porquê?

Notou alguma alteração na pele, no volume de fezes, no volume da urina ou outra?

Descreva qualquer alteração verificada e comunique de imediato.

Compreendi e **concordo em preencher diariamente** um formulário igual durante a duração da experiência.

Tomei conhecimento, estou esclarecid(a)o, concordo e aceito de livre e espontânea vontade participar no estudo proposto.

Estou informad(a)o que os dados a serem recolhidos serão tratados com confidencialidade e o seu uso é exclusivo ao estudo proposto.

Lisboa _____/_____/_____

Assinatura voluntária_____