

# Cardo. Um recurso endógeno de elevado valor acrescentado



VAI|Bio|Tec  
CYNARA

Bda. T.ª; Pereira, P.ª; Paulino, A.ª; Ferraz, A.ª; Fernandes, M.ª; Azeiteiro, N.B.ª; Dias, J.ª; Carvalho, M.J.ª; Portugal, J.ª; Ramalho, S.ª; Nunes, P.ª; Lago, R.C.ª; Costa, L.ª; Regato, M.ª; Belo, A.ª; Louro, A.P.ª; Gomes, S.F.ª; Galvão, E.D.ª; Cruz, C.P.ª; Pinheiro, C.ª; Lamy, E.ª; Machado, G.ª; Simões, P.ª; Belo, A.D.F.ª; Barros, M.ª; Rosa, N.ª; Barralho, P.ª; Silvestre, A.L.D.ª; Neves, L.A.ª; Crespo, J.G.ª; Duarte, M.F.ª  
 1 Centro de Biotecnologia Agrícola e Agro-Alimentar do Alentejo (CEBAU)/ Instituto Politécnico de Beja (IPBeja), 7801-908 Beja, Portugal;  
 2 Escola Superior Agrária de Beja/ Instituto Politécnico de Beja (IPBeja), 7801-908 Beja, Portugal;  
 3 Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), Quinta do Marquês, 1700-129 Oeiras, e 2005-0818 Vairão de Santarém, Portugal;  
 4 Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Biologia, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Nídeco da Mitra, 7005-554 Évora, Portugal;  
 5 Universidade Católica Portuguesa: Instituto de Ciências da Saúde – Viseu (UCP–ICSViseu), Estrada da Circunvalação, 3504-505 Viseu, Portugal;  
 6 Escola Superior Agrária de Viseu / Instituto Politécnico de Viseu (ESAV-IPV), Quinta da Alagoa, 3500-060 Viseu, Portugal;  
 7 CIQECQ e Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal;  
 8 REQUINT/CIQA, FCT, Universidade Nova de Lisboa, Campus de Caparica, 2829-516 Caparica, Portugal;  
 9. [fatima.duarte@cebaulid.pt](mailto:fatima.duarte@cebaulid.pt)

O CEBAU – Centro de Biotecnologia Agrícola e Agro-Alimentar do Alentejo, em parceria com seis entidades do Sistema Científico e Tecnológico Nacional, nomeadamente, Faculdade de Ciências e Tecnologia/Universidade Nova de Lisboa, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Instituto Politécnico de Beja, Universidade de Aveiro, Universidade Católica Portuguesa (CSViseu, e Universidade de Évora, desenvolve atualmente o projeto intitulado “VaBioTecCynara – Valorização económica do Cardo (*Cynara cardunculus*), estudo da sua variabilidade natural e suas aplicações biotecnológicas” (ALT20-03-01-145-FEDER-0000038) - financiado pelo Programa Operacional Regional do Alentejo (Alentejo 2020), Regulamento Específico do Domínio da Competitividade e Internacionalização - Sistema de Apoio à Investigação Científica e Tecnológica – Projeto de Investigação Científica e Desenvolvimento Tecnológico (IC&DT), através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER).



Figura 1. Aspecto morfológico de cada uma das variedades de *Cynara cardunculus* L.: cardo silvestre (A), alcatchofr (B) e cardo cultivado (C).



## O Cardo

*Cynara cardunculus* L. pertence à família das Asteraceae (Compositae), onde se incluem as variedades de cardo silvestre (var. *silvestris* (Lamk.) Fiori), o alcatchofr (var. *scolymus* (L.) Fiori) e o cardo cultivado (var. *altilis* DC) (Figura 1).

O Cardo é uma planta herbácea perene (10-15 anos) que cresce naturalmente em condições de habitat extremas: temperaturas elevadas e stress hídrico no verão, em solos secos, rochosos e não cultivados. Esta planta é bastante tolerante a condições de stress hídrico, devido ao seu sistema radicular profundo (até 5 m de profundidade), que suporta, anualmente, o crescimento da parte aérea após a estação de verão. Uma planta adulta pode atingir diferentes alturas e diâmetros, sendo em norma inferior a 2 m, e podendo espalhar-se por uma área de 1,5 m de diâmetro. Tradicionalmente, os capítulos de cardo são utilizados em Portugal para a produção de queijos de ovelho, “Queijo da Estrela”, “Serpa”, “Évora”, “Nisa”, “Azeitão”, entre outros, havendo outros países que utilizam o flor como mesnadinhalidade, como seja o caso do produção dos queijos “La Serena” e “Guz” em Espanha. Para além destas aplicações, as infusões de alcatchofr e folhas de cardo são amplamente conhecidas na medicina popular, dado a sua hepatoprotetividade e ações coléreticas, o que está relacionado com a sua composição fenólica, nomeadamente com os ácidos catequínicos (por exemplo, cinarínol e seus derivados (por exemplo, luteolína e luteolína 7-O-glicósido). Além das aplicações tradicionais citadas, o *Cynara cardunculus* tem sido também referido como uma cultura de múltiplas-aplicações, devido aos seus elevados teores de celulose e hemicelulose [1-6], nomeadamente para a produção de celulose e pasta de papel [1,5,7], como biocombustível sólido [2], produção de biogás [6] e de bioetanol [4]. Para além disso, >>>

o óleo da semente de cardo apresenta uma composição de ácidos gordos adequados para a produção de biodiesel [8, 9]. Resultados preliminares obtidos pelo CEBAL destacam a existência de diferentes genótipos de *Gynura cardunculus*, com perfis extremamente diferentes, o que consequentemente se traduz também num perfil de diversidade biológica distinto, e na possibilidade de utilização em diferentes aplicações biotecnológicas ainda não desenvolvidas. Paralelamente, a sua diversidade natural, pode ser explorada como fonte de variabilidade genética (novos óleos) para características importantes, tais como a produtividade, resistência a doenças, adaptação, qualidade e valor nutricional. Deste modo, o avilãoção da diversidade genética e a determinação do rácio entre ecótipos é um passo importante para a conservação de germoplasma, aumentando a eficiência do esforço para valorização de ecótipos a preservar. Em Portugal, apesar da riqueza de germoplasma de cardo selvagem, a identificação e caracterização deste recurso genético é ainda pouco conhecida.

### Potencial das folhas de *Gynura cardunculus* como fonte de compostos bioativos

Nos últimos anos, a indústria farmacêutica tem reconhecido os compostos naturais como excelentes modelos para a síntese de novos moléculas "natural product-like" biologicamente ativos, devido à sua (i) diversidade química; (ii) "estruturas" privilegiadas resultantes da evolução selecionada para ligação a macromoléculas biológicas e (iii) mecanismos pleiotrópicos de ação. Recentemente, e de acordo com o publicado pela *Food and Drug Administration* (FDA), os produtos naturais representam 38% dos novos entidades moleculares aprovadas pela FDA. De facto, nos últimos cinco anos, houve uma enorme procura por fármacos com propriedades anti-inflamatórias, e anti-bacterianas, o que se traduziu, respetivamente, em 11,3% e 10,4% do total de novas entidades químicas aprovadas. Curiosamente, no total de entidades químicas desenvolvidas entre 1981 e 2010, com perfil anti-inflamatório e anti-inflamatório, 25 e 56,8%, respetivamente, eram drogas semissintéticas derivadas de produtos naturais, o que claramente resume o potencial das plantas como fonte de compostos biologicamente ativos utilizados pela indústria farmacêutica.

Considerando o crescente interesse na exploração do cardo como fonte de biomassa, bem como a composição dos seus extratos, foi elaborada a caracterização química detalhada dos diferentes partes morfológicas de *G. cardunculus* L. var. *altissima* (DC) (variante cultivada) por cromatografia gasosa de espectrometria de massa (GC-MS). A análise quantitativa das frações verificou a existência de grandes percentagens de uma família de compostos denominada lactonas sesquiterpénicas na folha (Figura 2), de onde se destaca, pela sua abundância, um composto denominado cinopropinona

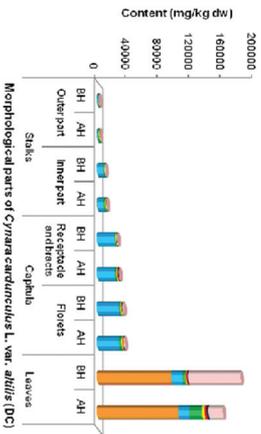


Figura 2. Famílias monoterpénicas da fração lipofílica identificada em extratos com dicitroneno de *Gynura cardunculus* L. var. *altissima* (DC), orais (BH) e opós (AH) hidroxil e ceto. Abreviaturas: AC, compostos aromáticos; FA, ácidos gordos; LC/AA, ácidos alifáticos de cadeia longa; NI, compostos não identificados; PT, terpenos pteridínicos; ST, lactonas sesquiterpénicas; ST, estereois. (Ramos et al., Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61 (3):8420–8429) [10].

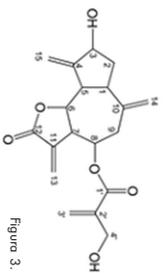


Figura 3. Estrutura química da Cinopropinona.

(Figura 3), que apresenta um grande potencial anticancerígeno. Os resultados até agora obtidos demonstraram que os extratos lipofílicos de cardo, em particular, a cinopropinona, apresentam elevado potencial biológico, podendo vir a ser utilizados como novos, ou como parte integrante de novos bioprodutos terapêuticos para o cancro do mama, particularmente o cancro do mama do tipo triplo negativo (altamente maligno). Com base neste potencial, um dos objetivos a explorar no presente projeto será o conhecimento, em maior detalhe, das interações celulares da cinopropinona, bem como o desenvolvimento de aplicações biotecnológicas para a indústria farmacêutica.

### A utilização da flor de *Gynura cardunculus* no fabrico de queijo

O uso tradicional do flor de cardo como agente coagulante no fabrico de queijos tradicionais de leite de ovelha é bem conhecido. O extrato de cardo é considerado como um dos mais importantes fatores ou mesmo o fator essencial para as propriedades do queijo, sendo-lhe atribuídos efeitos específicos e tecnologicamente essenciais, como as texturas características dos queijos de leite de ovelha. O uso de extrato de cardo é obrigatório no fabrico dos queijos de ovelha que beneficiam do estatuto de Designação de Origem Protegida (DOP).

Nos extratos de cardo obtidos segundo a metodologia tradicional têm sido identificadas diversas proteases asparticas, que apresentam diversas designações, cardosinas – A e H [12, 13], ciprosinas - 1 e 3 [14]. A atividade coagulante do extrato de cardo, tal como o que acontece com outros coagulantes, é influenciada por fatores tecnológicos bem conhecidos e identificados no fabrico de queijo, como a temperatura (fator exógeno), pH, composição do leite e teor em cálcio iónico [fatores inerentes], entre outros, e o nível ótimo de utilização é, em regra, ajustado de acordo com os princípios variáveis que caracterizam o processo tecnológico [15, 16].

Não obstante os estudos já efetuados e o conhecimento já disponível sobre as propriedades das enzimas provenientes da flor de cardo, o conteúdo enzimático dos extratos e o efeito da variabilidade da flor/perfil enzimático não está completamente esclarecido e a utilização dos extratos de cardo continua a processar-se de forma tradicional, sem qualquer tipo de certificação ou de avilãoção das soluções coagulantes. Louro-Martins et al. [17] referem uma variação ocorrida em função do tipo morfológico da planta e encontram perdas significativas de atividade coagulante causada pelo secagem a baixa temperatura, o modo tradicional de conservação da flor de cardo, provavelmente com efeito a nível da produção de queijo. As razões para a variabilidade na atividade coagulante/proteolítica não estão ainda esclarecidas, podendo eventualmente resultarem do efeito da variabilidade da flor/variabilidade de perfil enzimático, assim como do efeito do secagem da flor no perfil enzimático. Deve ser realçado que o modo tradicional de preparação deste físcio coagulante não constitui, como se pode deduzir, um fator de estabilidade do fabrico de queijo e que a variabilidade nos perfis enzimáticos que se começam a identificar associados à variabilidade das populações de plantas não ajuda à definição e à estabilização das propriedades típicas do queijo.

Portugal submete recentemente à União Europeia, um pedido de inclusão do extrato bruto tradicional de *Gynura cardunculus* na lista de enzimas alimentares autorizados na União Europeia, como um extrato enzimático para utilização em queijaria, o qual permitirá a continuidade da respetiva utilização, nos termos regulamentares. O aprofundamento do conhecimento referente à variabilidade relativa

da planta e perfis enzimáticos é, no entanto, crítico para o melhoramento e sustentabilidade da queijaria tradicional, permitindo no futuro uma base para a certificação ou garantia das fórmulas enzimáticas usadas no fabrico de queijo, permitindo o desenvolvimento do grande potencial de inovação associado a esta peculiar fonte de enzimas coagulantes.

### ValBioTecCynara – uma estratégia combinada para valorização económica do cardo

O projeto ValBioTecCynara abordou a caracterização genética, molecular, morfológica e bioquímica de diferentes variedades de cardo, como uma estratégia combinada para identificar, na variabilidade genética natural, indivíduos com perfis bioquímicos de interesse. O projeto ValBioTecCynara encontra-se a explorar rotas inovadoras no uso tradicional das flores (pistilos) para a indústria de produção de queijo; e desenvolver novos produtos baseados nos compostos bioativos presentes nas folhas. A restante biomassa será valorizada no âmbito de outros projetos de pesquisa, em diferentes áreas científicas (complementares à presente proposta).



No primeiro ano do projeto foram já identificados 15 populações dispersas pela região Alentejo. As referidas populações foram amostradas e caracterizadas morfológicamente para um total de 46 descritores, entre os quais se destaca o peso foliar, altura, número de ramificações primárias, número de inflorescências primárias e secundárias. De todas as populações foi recolhido material vegetal (folhas, flores e sementes) totalizando uma amostragem de 107 indivíduos. Após a caracterização morfológica, o material encontrado-se agora a ser caracterizado do ponto de vista químico e genético. O perfil bioquímico e tecnológico dos pistilos das flores está a ser avaliado, com vista ao estudo da sua influência no processo tecnológico de produção de queijos DOP Alentejo (Serpa, Évora e Nisa), combinando inovação com os produtos tradicionais portugueses.



A mesma variabilidade natural das plantas será explorada no área da valorização bio farmacêutica, através da identificação das plantas com maiores quantidades de cinopropinona nas folhas (entomamente descrita com grande potencial biológico). Relativamente aos bioprodutos de *Gynura cardunculus* e com base nos resultados

anteriores do nosso equipo de trabalho, os extratos das folhas de cardo serão estudados numa perspetiva que vise a valorização económica do folho numa perspetiva de novos aplicações biotecnológicas de base farmacêutica: i) identificar os diversos celulares da cinopropinona; ii) desenvolver a compreensão do seu potencial anticancerígeno; iii) desenvolver matrizes poliméricas para revestimento de feridas crónicas; iv) desenvolver novas formulações biocidas.

Os genótipos já selecionados estão a ser preservados, com o estabelecimento de um campo experimental de cardo, parcialmente já instalado em Beja (Figura 4), o qual consideramos ser a pedra basilar para diversos futuros valorizações económicas da planta *Gynura cardunculus*, o nível nacional e internacional.



Figura 4. Instalação de um campo experimental de *Gynura cardunculus*, no âmbito do projeto ValBioTecCynara, no Campo Hortofrutícola do Instituto Politécnico de Beja

Assim, o projeto ValBioTecCynara, que possui dois objetivos diferentes mas complementares, tem como objetivo a promoção do conhecimento científico e tecnológico em cardo, assim como a cooperação entre instituições I&D e o setor comercial. Essa cooperação implica um claro reforço das entidades tradicionais e ocorre o desenvolvimento de novas soluções de melhoramento, levando a uma consolidação do conhecimento transferido numa perspetiva de maximização de exploração da cadeia de valor em redor da produção de cardo.

Referências:  
 [1] Gemmino, J.A. et al. Industrial Crops and Products 29 (2009) 118-125.  
 [2] Gemmino, J. et al. International Journal of Molecular Sciences 9 (2008) 1241-1258.  
 [3] Szabaly, A. Journal of Chemical Engineering and Process Technology (2011).  
 [4] Fernandes, M.C. et al. Bioscience Technology 286 (2013) 309-315.  
 [5] Gemmino, J.A. et al. Industrial Crops and Products 40 (2012) 318-323.  
 [6] Oliveira, A. et al. Industrial Crops and Products 40 (2012) 318-323.  
 [7] Gemmino, J.A. et al. Industrial Crops and Products 13 (2001) 1-10.  
 [8] Curt, M. D. et al. Biomass and Bioenergy 23 (2002) 33-46.  
 [9] Sergio, I. et al. European Journal of Lipid Science and Technology 112 (2010) 310-320.  
 [10] Moser, C. et al. Bioscience Technology 96 (2005) 973-985.  
 [11] Ramos, P.A. et al. J. Agric. Food Chem 51 (2003) 8420-8429.  
 [12] Gemmino, J.A. et al. Industrial Crops and Products 40 (2012) 318-323.  
 [13] Ramalho-Santos, M. et al. Plantia 2013 (19)71-208-212.  
 [14] Hemegarnier, U. et al. Phytochemistry 29 (1990) 1405-1410.  
 [15] Vieira de Sá, F., Barbosa, M. Journal of Baby Research 39 (1972) 335.  
 [16] Martins, A.P.L. Agrícola – contributos científicos. INRB P. INCM 5A (2011) 197-208.  
 [17] Louro-Martins, A. P. et al. LWT 76 (1996) 723-477.



ValBioTec  
CYNARA

