



11º Encontro de Química dos Alimentos

Qualidade dos alimentos: novos desafios

Bragança, 2012
16-19 Setembro

Atas

ISBN
978-972-745-141-8

Nutracêuticos e potencial antioxidante de erva-cidreira: amostras cultivadas, obtidas por cultura *in vitro* e comerciais

Maria Inês Dias, Lillian Barros, Maria João Sousa, Isabel C.F.R. Ferreira*

Centro de Investigação de Montanha (CIMO-ESA), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal
*iferreira@ipb.pt

Palavras chave: *Melissa officinalis*; Infusões; Cultura *in vitro*; Nutracêuticos; Potencial antioxidante

RESUMO

As infusões de *Melissa officinalis* L. (erva-cidreira) são usadas em todo o mundo pela sua ação digestiva, analgésica e outras aplicações farmacêuticas. Neste trabalho, avaliou-se a produção de nutracêuticos e o potencial antioxidante de cinco amostras diferentes de erva-cidreira: uma amostra cultivada em quintal, uma obtida por cultura *in vitro* e duas amostras comerciais disponíveis em diferentes formulações (em saquetas e granulada). Este é um estudo inovador de comparação de nutracêuticos e atividade antioxidante em erva-cidreira cultivada em quintal, obtida por cultura *in vitro* e comercialmente. Para além disso, demonstrou que a técnica de cultura *in vitro* pode ser utilizada para estimular a produção de vitaminas nomeadamente tocoferóis e ácido ascórbico.

1. INTRODUÇÃO

O stresse oxidativo resulta de uma crescente concentração de espécies reativas de oxigénio (ROS) provocando danos celulares causados pela interação dos seus constituintes com as ROS. Para manter um sistema biológico saudável é importante equilibrar a presença destas espécies com as defesas antioxidantes [1,2]. Hoje em dia, antioxidantes como os polifenóis estão na linha da frente da investigação não só devido à sua origem natural mas também pela sua capacidade de atuar como captadores de radicais livres, apoiando o sistema antioxidante endógeno [3,4]. Uma grande variedade de suplementos alimentares, fitoquímicos e pró-vitaminas, que ajudam na manutenção de uma boa saúde e no combate a doenças são agora descritos como alimentos funcionais e fontes nutracêuticas [5]. Alguns exemplos são os ácidos gordos, carotenóides, vitaminas e polifenóis que podem ser encontrados em *Melissa officinalis* L., comumente conhecida com erva-cidreira. Esta planta pertence à família das Lamiaceae tendo sido descrita como uma das fontes mais interessantes de compostos antioxidantes [6]. É uma planta comestível usada em todo o mundo na forma de infusão, importante na prevenção de algumas doenças [7,8]. A sua ação digestiva, analgésica, sedativa, espasmolítica e antimicrobiana é bem conhecida sendo uma das poucas plantas aromáticas usada em preparações farmacêuticas [9]. Existem alguns estudos sobre a

atividade antioxidante da erva-cidreira na forma de infusão [3,6,10], extracto etanólico [7] e resíduos supercríticos [9,11]. Outros estudos foram realizados com o objetivo de prevenir a deterioração lipídica em molhos [12] e em carne de porco cozinhada [13,14]. Posteriormente, alguns antioxidantes foram identificados em erva-cidreira, como compostos fenólicos, maioritariamente ácido rosmarínico [8,15,16], carotenóides e ácido ascórbico [17]. No entanto, tanto quanto podemos saber, não existem artigos científicos em erva-cidreira cultivada *in vitro*, podendo esta ser um técnica muito importante para explorar novas potencialidade das plantas para aplicação industrial [18,19]. O principal objetivo do presente trabalho era comparar os nutracêuticos e o potencial antioxidante de amostras de erva-cidreira cultivada em quintal, *in vitro* e comerciais (disponíveis em duas formas distintas).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

Foram analisadas quatro amostras de erva-cidreira, uma amostra cultivada em quintal, uma amostra obtida através de uma metodologia de cultura *in vitro* [18,20] e duas amostras comerciais, disponíveis num supermercado local, saquetas e forma granulada. As amostras de quintal e *in vitro* foram liofilizadas e pulverizadas (20 mesh).

2.2 Composição nutricional e nutracêutica

As amostras foram analisadas pela sua composição química (humidade, proteínas, lípidos, glúcidos e cinzas) seguindo procedimentos oficiais. Os açúcares foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de índice de refração (HPLC-RI) usando a melezitose como padrão interno (PI). Os ácidos gordos foram determinados por cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama (GC-FID). Os tocoferóis foram determinados por HPLC-fluorescência, usando tocol como PI. O ácido ascórbico foi determinado segundo o ensaio do 2,6-dicloroindofenol, enquanto que β -caroteno e licopeno foram determinados por procedimentos espectrofotométricos.

2.3 Potencial antioxidante nas infusões

Para a preparação das infusões, misturou-se 1g das amostras com 200 mL de água a ferver, filtrou-se, congelou-se e, posteriormente, liofilizou-se. As amostras submeteram-se aos seguintes ensaios *in vitro* de avaliação de atividade antioxidante: atividade captadora de radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), poder redutor, inibição da descoloração do β -caroteno e inibição da peroxidação lipídica pelo ensaio TBARS (substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico). Utilizou-se trolox como padrão. Os fenóis totais foram determinados a partir do método de Folin:Ciocalteu, usando ácido gálico como padrão. Os flavonóides totais foram também determinados, usando a catequina como padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os glúcidos foram o macronutriente encontrado em maior quantidade em todas as amostras. A amostra obtida por cultura *in vitro* apresentou os níveis mais elevados de proteínas (~8 g/100 g massa seca) e cinzas (~12 g/100 g), enquanto os níveis mais elevados de glúcidos foram encontrados na amostra comercial granulada (~85 g/100 g). A amostra em saqueta teve o valor energético mais elevado (377 kcal/100). A composição em açúcares foi muito semelhante em todas as amostras, sendo a sua concentração baixa (~3 g/100 g). Foram detetados e quantificados mais de 22 ácidos gordos em todas as amostras, sendo o ácido α -linoleico (C18:3n3, PUFA) o maioritário em todas as amostras. Os níveis de ácidos gordos nas amostras comerciais foram muito mais baixos do que os observados nas amostras de quintal e obtidas por cultura *in vitro*. O segundo ácido gordo maioritário nas amostras comerciais foi o ácido palmítico (C16:0, SFA) sendo responsável pelos níveis elevados de SFA. A amostra de quintal apresentou níveis elevados de PUFA mas muito baixos de SFA. Para uma boa qualidade nutricional dos alimentos a razão PUFA/SFA deve ser superior a 0,45, enquanto a razão n-6/n-3 deve ser inferior a 4,0, o que é observado em todas as amostras. A melhor razão PUFA/SFA foi registada na amostra de quintal (4,68) e a melhor razão n-6/n-3 foi obtida na amostra *in vitro* (0,27). Foi encontrado um conteúdo significativo de tocoferóis totais na amostra obtida por cultura *in vitro* (213 mg/100 g) devido sobretudo aos níveis de α -tocoferol, γ -tocoferol e δ -tocoferol. O β -tocoferol foi somente encontrado na amostra de quintal, e as amostras comerciais apresentaram baixos níveis e diversidade em tocoferóis. A mesma tendência foi observada em termos de ácido ascórbico e licopeno.

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada na infusão da planta, uma vez que esta é a forma mais comum de consumo da planta em estudo. Em geral, as amostras comerciais revelaram o maior potencial antioxidante, sobretudo as saquetas, revelando o menor valor EC_{50} para os métodos de DPPH, poder redutor, inibição da descoloração do β -caroteno e inibição da formação de TBARS, sendo coerentes com a existência de altos níveis de fenóis (960 mg equivalentes de ácido gálico/mL) e flavonóides (428 mg equivalentes de catequina/mL). A amostra obtida por cultura *in vitro* mostrou o menor potencial antioxidante com os maiores valores de EC_{50} e menores teores de fenóis (293 mg equivalentes de ácido gálico/mL) e flavonóides (118 mg equivalentes de catequina/mL).

4. CONCLUSÕES

De uma forma geral, o perfil de nutrientes e nutracêuticos da erva-cidreira cultivada *in vitro* é mais semelhante à de quintal do que às duas amostras comerciais (saqueta e granulada). Apresentou níveis mais elevados de proteínas e cinzas, e menor valor energético. A razão n6/n3 mais favorável, o nível mais elevado de PUFA, tocoferóis e ácido ascórbico foram também encontrados nesta amostra. As saquetas apresentaram níveis mais elevados de fenóis e atividade antioxidante.

Agradecimentos

FCT e COMPETE/QREN/UE: PTDC/AGR-ALI/110062/2009, CIMO PEst-OE/AGR/UI0690/2011 e SFRH/BPD/4609/2008 a L. Barros

Referências

- [1] B. Halliwell, *Annu. Rev. Nutr.*, 1996, 16, 33-50.
- [2] M Valko, D Leibfritz, J Moncol, MT Cronin, M Mazur, J Telser, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007, 39, 44-84.
- [3] V Katalinic, M Milos, T Kulisic, M Jukic, *Food Chem.*, 2006, 94, 550-557.
- [4] ICFR Ferreira, L Barros, RMV Abreu, *Curr. Med. Chem.*, 2009, 16, 1543-1560.
- [5] J Bernal, JA Mendiola, E Ibáñez, AJ Cifuentes, *Pharm. Biomed Anal.*, 2009, 55, 758-774.
- [6] MKICiriano, S Rehecho, MI Calvo, RY Caverro, I Navarro, I Astiasarán, D Ansorena, *Meat Sci.*, 2010, 85, 373-377.
- [7] A Ferreira, C Proença, MLM Serralheiro, MEMJ Araújo, *Ethnopharm. Pharm.*, 2006, 108, 31-37.
- [8] D Ivanova, D Gerova, T Chervenkov, TJ Yankova, *Ethnopharm. Pharm.*, 2005, 96, 145-150
- [9] B Marongiu, S Porcedda, A Piras, A Rosa, M Deiana, MA Dessì, *Phytother. Res.*, 2004, 18, 789-792.
- [10] J. Bouayed, K Piri, H Rammal, A Dicko, F Desor, C Younos, R Soulimani, *Food Chem.*, 2007, 104, 364-368.
- [11] MA Ribeiro, MG Bernardo-Gil, MMJ Esquivel, *SuperCrit. Fluids*, 2001 21, 51-60.
- [12] I Berasategi, S Legarra, MG Ciriano, S Rehecho, MI Calvo, RY Caverro, I Navarro-Blasco, D Ansorena, I Astiasarán, *Meat Sci.*, 2011, 88, 705-711.
- [13] R Lahucky, K Nuernberg, L Kovac, O Bucko, G Nuernberg, *Meat Sci.*, 85, 2010, 779-784.
- [14] MS Lara, JI Gutierrez, M Timón, AI Andrés, *Meat Sci.*, 2011, 88, 481- 488.
- [15] K Dastmalchia, HJD Dormana, PP Oinonen, Y Darwisd, I Laaksoa, R Hiltunena, *LWT*, 2008, 41, 391-400.
- [16] I Spiridona, S Colcerub, N Anghela, CA Teacaa, R Bodirlaua, A Armatub, *Nat. Prod. Res.*, 2011, 25, 1675-1661.
- [17] E Capecka, A Mareczek, M Leja, *Food Chem.*, 2005, 93, 223-226.
- [18] MI Dias, L Barros, MJ Sousa, ICFR Ferreira, *Plants Food Hum. Nutr.*, 2011, 66, 181-186.
- [19] A Matkowski, *Biotechnol. Adv.* 2008, 26, 548-560.
- [20] T Murashige, F Skoog, *Physiol Plant.*, 1962, 15, 473-497.
- [21] AOAC, Association of Official Analytical Chemists, 1995, 16, Arlington VA, USA.
- [22] J Pinela, L Barros, AM Carvalho, ICFR Ferreira. *Food Chem Toxicol.*, 2012, 50, 829-834.
- [23] J Pinela, L Barros, AM Carvalho, ICFR Ferreira, *Food Chem Toxicol.*, 2011, 49, 2983-2989.
- [24] L Barros, AM Carvalho, ICFR Ferreira, *Food Chem Toxicol.*, 2010, 48, 1466-1472.