



# 11º Encontro de Química dos Alimentos

Qualidade dos alimentos: novos desafios

Bragança, 2012  
16-19 Setembro

**Atas**

ISBN  
978-972-745-141-8

## Comparação do perfil fenólico de infusões de erva-cidreira preparadas com amostras cultivadas, obtidas por cultura *in vitro* e comerciais

*Maria Inês Dias<sup>a</sup>, Lillian Barros<sup>a,b</sup>, Montserrat Dueñas<sup>b</sup>, Maria João Sousa<sup>a</sup>, Celestino Santos-Buelga<sup>b</sup>, Isabel C.F.R. Ferreira<sup>a\*</sup>*

<sup>a</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO-ESA), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

<sup>b</sup>Grupo de Investigación en Polifenoles (GIP-USAL), Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, Spain

\*iferreira@ipb.pt

**Palavras chave:** *Melissa officinalis*; Cultura *in vitro*; Ácidos fenólicos; Flavonóides; HPLC-DAD-ESI/MS

### RESUMO

*Melissa officinalis* L. (erva-cidreira) é vulgarmente consumida em infusões, apresentando propriedades sedativas, carminativas e antiespasmódicas; sendo também incluída em algumas preparações farmacêuticas. No presente trabalho, foi comparado o perfil fenólico de infusões preparadas a partir de quatro 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). Assim, a infusão de erva-cidreira pode constituir uma fonte destes compostos, conhecidos pelos seus efeitos bioativos.

### 1. INTRODUÇÃO

O interesse em compostos naturais tem vindo a crescer nas últimas décadas. Os compostos fenólicos são um grupo de metabolitos secundários, no qual se incluem os flavonóides (antocianinas, flavonas, isoflavonas) e ácidos fenólicos, com propriedades antioxidantes, redutoras e quelantes, atuando como agentes redutores, dadores de hidrogénio e captadores de singletos de oxigénio [1]. Para além disso, apresentam atividade anti-bacteriana, anti-vírica, anti-fúngica, anti-inflamatória, entre outras atividade farmacológicas [2]. *Melissa officinalis* L., commumente conhecida como erva-cidreira, é uma planta perene pertencente às Lamiaceas. Tem propriedades terapêuticas como sedativa, carminativa e anti-espasmódica, sendo também utilizada para o tratamento de dores de cabeça, reumatismo, indigestão e hipersensibilidades [3-5]. Todas estas propriedades da erva-cidreira foram relacionadas com os seus altos níveis em ácidos fenólicos, maioritariamente derivados de ácidos hidroxicinâmicos, nomeadamente ácido rosmarínico [6]. A técnica de cultura *in vitro* permite explorar novas potencialidades das plantas através da micropropagação estéril em larga escala, obtendo inúmeras cópias da mesma planta, sendo um meio para a produção de metabolitos como os compostos fenólicos, alcalóides, terpenos ou quinonas [7,8]. O objetivo deste estudo foi o estabelecimento de perfis fenólicos

individuais de amostras de erva-cidreira cultivada em quintal, obtida por cultura *in vitro* e amostras comerciais, preparadas como infusão.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Estudaram-se quatro amostras de erva-cidreira: amostra cultivada em quintal, amostra obtida por cultura *in vitro* e amostras comerciais, adquiridas num supermercado local na forma de saquetas e granulada. Para produzir erva-cidreira por cultura *in vitro*, seguiu-se um procedimento de micropropagação otimizado pelo nosso grupo de investigação [8]. A análise de compostos fenólicos foi realizada, em fase reversa, por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de díodos e espectrometria de massa (HPLC-DAD-ESI/MS). A separação cromatográfica foi feita numa coluna S3 ODS-2 C18 Spherisorb Waters e utilizou-se ácido fórmico 0,1% em água e acetonitrilo, em gradiente, como fase móvel. A quantificação dos compostos foi feita com base em diferentes curvas padrão de compostos comerciais.

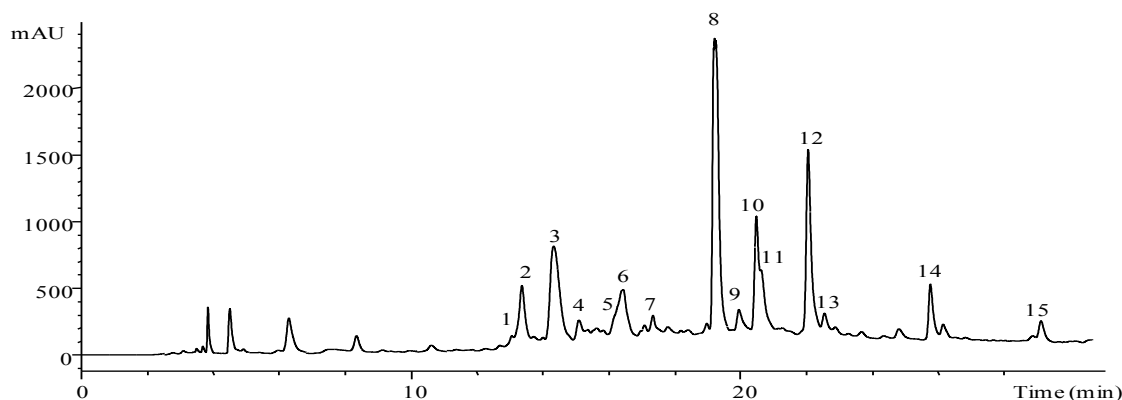
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras de erva-cidreira estudadas apresentaram um perfil muito semelhante, somente diferenciando nas quantidades de cada composto (Tabela 1).

**Tabela 1.** Tempo de retenção (Rt), comprimentos de onda de absorção máxima na zona do visível ( $\lambda_{\max}$ ), dados do espectro de massa, tentativa de identificação dos ácidos fenólicos e flavonóides das amostras estudadas de erva-cidreira.

Índice	Rt (min)	$\lambda_{\max}$ (nm)	Ião molecular [M-H] <sup>-</sup> (m/z)	MS <sup>2</sup> (m/z)	Tentativa de identificação
	6.22	280	197	179(30), 135(100)	Ácido 3-(3,4-di-hidroxifenil)-lático
	13.06	297,334(sh)	597	579(58), 359(8), 295(100), 179(25)	Ácido Yunaneico F
	13.36	330	439	439(100), 359(26), 179(25), 161(48), 135(49)	Ácido rosmarínico sulfatado
	14.29	278,324(sh)	537	493(67), 359(17), 313(31), 295(100), 269(26), 197(20), 179(77)	Isómero do ácido litospérmico A
	15.09	330	473	311(21), 293(15), 267*, 179(82), 149(100), 135(30)	Hesóxido do ácido caftárico
	16.22	286,324(sh)	717	537(4), 519(100), 493(7), 359(98), 339(84), 321(5), 295(12), 197(9), 179(16)	Isómero do ácido salvianólico B
	16.44	320	521	359(100), 197(24), 179(38), 161(90), 135(24)	Hesósido do ácido rosmarínico
	17.34	282,326(sh)	719	539(12), 521(9), 359(100), 197(9), 179(12), 161(51), 135(5)	Ácido sagerínico
	19.19	330	359	197(98), 179(94), 161(100), 135(58)	Ácido rosmarínico
1)	19.94	350	461	285(100)	Luteolina-3'-O-glucuronido
1	20.47	326	829	667(84), 535(100), 491(25), 311(55), 293(5), 197(4), 179(9)	Derivado do ácido salvianólico C
2	20.62	276,338(sh)	493	359(100), 313(12), 295(67), 269(7), 197(21), 179(53)	Ácido salvianólico A
3	22.07	288,326(sh)	537	493(47), 359(100), 313(3), 295(20), 269*, 197(42), 179(57)	Ácido litospérmico A
4	22.55	330	813	667(12), 535(100), 491(32), 311(70), 293*, 179*	Derivado do ácido salvianólico C
5	25.78	320	715	535(100), 491(37), 311(92), 293(4), 179*	Derivado do ácido salvianólico C
5	29.12	286,324(sh)	313	269(59), 203(29), 179*, 161(100), 135(6)	Isómero do ácido salvianólico F

A Figura 1 mostra o perfil de compostos fenólicos na amostra de erva-cidreira cultivada em quintal.



**Figura 1.** Cromatograma individual de erva-cidreira em quintal, obtido a 280 nm.

Os compostos maioritários são dímeros, trímeros e tetrâmeros do ácido cafeico, sendo o ácido rosmarínico (dímero), o composto maioritário. Este composto foi mais abundante na amostra de erva-cidreira comercializada em saquetas (55,68 mg/g) e menos abundante na amostra obtida por cultura *in vitro* (15,46 mg/g). Foi também encontrado um flavonóide, 3-*O*-glucoronídeo de luteolina, em todas as amostras variando entre 8,43 mg/g na amostra comercial granulada e 1,22 mg/g na amostra obtida por cultura *in vitro*. Esta amostra e a amostra cultivada em quintal apresentaram menor quantidade de compostos fenólicos (59,59 e 30,21 mg/g, respectivamente), sendo as maiores quantidades observadas nas amostras comerciais (~100 mg/g) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Quantificação dos compostos fenólicos (mg/g infusion) nas amostras estudadas de erva-cidreira.

Pico	Cultivada	Cultura <i>in-vitro</i>	Comercial saqueta	Comercial granulada
1	nq	nq	nq	nq
2	0.12 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.35 ± 0.05
3	3.63 ± 0.11	2.45 ± 0.10	3.87 ± 0.18	6.34 ± 0.19
4	8.79 ± 0.14	0.57 ± 0.06	7.09 ± 0.46	11.64 ± 0.30
5	0.52 ± 0.02	0.63 ± 0.00	nd	0.44 ± 0.01
6	1.43 ± 0.02	nd	1.12 ± 0.00	1.77 ± 0.01
7	1.98 ± 0.22	2.01 ± 0.01	3.49 ± 0.07	2.90 ± 0.07
8	0.51 ± 0.03	0.36 ± 0.04	2.17 ± 0.06	1.59 ± 0.01
9	20.96 ± 0.16	15.46 ± 0.08	55.68 ± 0.20	39.86 ± 0.26
10	4.11 ± 0.78	1.22 ± 0.06	6.63 ± 0.02	8.43 ± 0.19
11	4.61 ± 0.16	2.12 ± 0.05	2.23 ± 0.37	1.06 ± 0.27
12	2.28 ± 0.35	1.29 ± 0.09	4.08 ± 0.04	3.22 ± 0.10
13	6.84 ± 0.51	3.08 ± 0.31	17.97 ± 1.64	13.68 ± 1.39
14	0.71 ± 0.06	0.68 ± 0.07	0.28 ± 0.06	1.25 ± 0.02
15	2.35 ± 0.17	0.10 ± 0.01	6.55 ± 0.27	8.50 ± 0.15
16	0.77 ± 0.04	0.23 ± 0.00	nd	nd
TPA	55.48 ± 0.10 c	28.99 ± 0.23 d	102.61 ± 1.00 a	92.60 ± 0.85 b
TF	4.11 ± 0.78 c	1.22 ± 0.06 d	6.63 ± 0.02 b	8.43 ± 0.85 a
TPC	59.59 ± 0.88 c	30.21 ± 0.17 d	109.24 ± 0.98 a	101.03 ± 0.66 b

Em cada linha, letras diferentes representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). nd- não detectado; nq-não quantificado; TPA-ácidos fenólicos totais; TF- flavonoides totais; TP- compostos fenólicos totais.

O presente estudo demonstra que a infusão de erva-cidreira pode ser uma fonte de compostos fenólicos, conhecidos pelos seus efeitos bioativos, estando quantitativamente de acordo com o potencial antioxidante desta planta anteriormente descrito [9].

### **Agradecimentos**

FCT, Portugal e COMPETE/QREN/UE: projeto PTDC/AGR-ALI/110062/2009, projeto estratégico do CIMO PEst-OE/AGR/UI0690/2011 e bolsa SFRH/BPD/4609/2008 de L. Barros. MICINN espanhol: Programa Consolider-Ingenio 2010 (project Fun-c-Food, CSD2007-00063). Programa “Ramón y Cajal” pelo contrato de M. Dueñas.

### **Referências**

- [1] C Proestos, N Chorianopoulos, GJE Nychas, M Komaitis, *J Agric Food Chem*, 2005, 53, 1190-1195.
- [2] AI Hussain, F Anwar, PS Nigam, SD Sarker, JE Moore, JR Rao, A Mazumdar, *LWT*, 2011, 44, 1199-1206.
- [3] S Kim, EJ Yun, JS Bak, H Lee, SJ Lee, CT Kim, JH Lee, KH Kim, *Food Chem*, 2010, 121, 521-526.
- [4] C Weitzel, M Petersen, *Phytochemistry*, 2011, 72, 572-578.
- [5] M Petersen, MSJ Simmonds, *Phytochemistry*, 2003, 62, 121-125.
- [6] I Fecka, S Turek, *J Agric Food Chem*, 2007, 55, 10908-10917.
- [7] KM Oksman-Caldentey, D Inzé, *Trends Plant Sci*, 2004, 9, 433-440.
- [8] MI Dias, L Barros, MJ Sousa, ICFR Ferreira, *Plant Food Human Nutr*, 2011, 66, 181-186.
- [9] MI Dias, L Barros, MJ Sousa, ICFR Ferreira, *Food Chem Toxicol*, 2012, 50, 1866-1873.