

POLIANA MIRANDA ROBERTO

**NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS DE ALECRIM,  
MANJERICÃO E HORTELÃ FRESCOS, DESIDRATADOS E DE  
SUAS INFUSÕES QUENTE E GELADA**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciência da Nutrição, para obtenção  
do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2018

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

R642n  
2018 Roberto, Poliana Miranda, 1989-  
Nutrientes e compostos bioativos de alecrim, manjericão e  
hortelã frescos, desidratados e de suas infusões quente e gelada /  
Poliana Miranda Roberto. – Viçosa, MG, 2018.  
xvi, 134 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Plantas aromáticas - Valor nutritivo. 2. Chá. 3. *Salvia  
rosmarinus*. 4. *Mentha spicata*. 5. Vitamina C. 6. Vitamina E .  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Nutrição e  
Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição.  
II. Título.

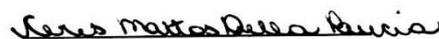
CDD 22. ed. 613.286

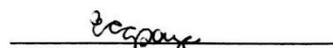
POLIANA MIRANDA ROBERTO

**NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS DE ALECRIM,  
MANJERICÃO E HORTELÃ FRESCOS, DESIDRATADOS E DE  
SUAS INFUSÕES QUENTE E GELADA**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciência da Nutrição, para obtenção  
do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2018.

  
Ceres Mattos Della Lucia  
(Coorientadora)

  
Eliana Carla G. de Souza

  
Pamella Cristine Anunciação

  
Helena Maria P. Sant'Ana  
(Orientadora)

**“A sabedoria, porém, lá do alto é,  
primeiramente, pura; depois, pacífica, indulgente,  
tratável, plena de misericórdia e de bons frutos,  
imparcial, sem fingimento.”**

*Tiago, 3:17*

**“Cada adversidade, cada fracasso, cada  
dor de cabeça carrega consigo a semente de um  
benefício igual ou maior!!!”**

*Napoleon Hill*

**“Todo caminho, por mais longo que seja,  
começa com um pequeno passo!”**

*Lao - Tsé*

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pois Ele é digno de toda honra, glória e gratidão. Por seu amor, bondade e misericórdia sem limites.

A minha **mãe Maria e meu Pai Geraldo**, por serem meu porto seguro, grandes apoiadores, por me ajudarem em todos os momentos que precisei, por terem paciência até nos momentos que não mereço, por acreditarem em mim sempre e principalmente por serem os melhores avós e segundo pais para meu filho. Sem eles, nunca conseguiria chegar a esse momento.

A minha **Vó Pretinha e Tia Terezinha** por toda preocupação comigo e cuidado com meu filhote.

Ao meu filho, "**Príncipe Sapequeira**" por ser minha motivação diária e força pra buscar sempre o melhor para nossa família, por seu amor incondicional e sempre compreender minhas ausências, mesmo tão pequenino.

Ao **Augusto**, grande amigo, companheiro e querido, pela paciência, amor, escuta, cuidado durante os últimos 5 anos e por todos momentos de descontração, que me deram força pra continuar. A sua família pelo apoio, carinho e hospitalidade.

A minha professora orientadora **Helena Maria Pinheiro Sant'Ana**, pelos ensinamentos, acolhida, pela dedicação e cobranças durante todo o processo de orientação, que me fizeram evoluir.

Às coorientadoras Prof<sup>as</sup> **Ceres Mattos Della Lucia e Eliana Carla Gomes de Souza**, por serem pessoas maravilhosas, compreensivas e dedicadas. Por todo profissionalismo e conhecimentos passados durante o processo de correção e orientações necessárias.

A todos os **técnicos, agricultores e demais pessoas e departamentos** da UFV que contribuíram de alguma forma pra realização dessa pesquisa.

À **CAPES** pela concessão da bolsa de mestrado, ao **DNS** por todo comprometimento e zelo, à **UFV** por sua beleza, excelência em ensino, por ser uma das melhores do país e pela oportunidade de realização do mestrado.

A todos **Lavianos Vitaminad@s** que me auxiliaram durante o preparo das amostras, análises e atividades cotidianas. Especialmente as do grupo "**Digle e Abraão do Rock**" pela amizade, convívio e também o apoio ao longo do

mestrado, sendo fundamental, dia após, dia enquanto este trabalho era desenvolvido.

A todos os demais **colegas e ex- vitaminad@s** (Pamella e Leandro) que auxiliaram sempre que possível e que contribuíram significativamente para o desenvolvimento e conclusão desse trabalho.

Meus agradecimentos também a todos os **docentes** com quem entrei em contato, pelo conhecimento transmitido, profissionalismo e excelência de ensino.

Aos **meus amigos** de Caratinga e Viçosa que estão sempre comigo dando força e emanando pensamentos positivos e os que estão espalhados por aí, que apesar da distância se fazem presente em meu coração.

A todos os meus **colegas de trabalho**, da Policlínica Municipal e do SAD, pela compreensão nos vários momentos de ausência, atenção à saúde de minha mãe todas as vezes que não pude estar presente e pelos desejos de sucesso na conclusão do mesmo.

A **todos aqueles que me motivaram** e também **aos que muitas vezes duvidaram** da minha capacidade de enfrentar as adversidades e, especialmente, de desempenhar todas as funções/obrigações que eu tinha que realizar, pois eles me fizeram enxergar que eu era mais forte e capaz do que eu pensava.

**Enfim, a todas as energias positivas do universo!!!**

## BIOGRAFIA

Poliana Miranda Roberto, filha de Geraldo Marcelino Roberto e Maria Batista de Miranda Roberto, nasceu em 28 de outubro de 1989 no município de Belo Horizonte, Minas Gerais.

Em março de 2008, logo após concluir o ensino médio, ingressou no curso de Nutrição da Universidade Federal de Viçosa (UFV - MG), o qual concluiu em fevereiro de 2013, com colação de grau antecipada, para assumir o cargo efetivo de Nutricionista da Prefeitura Municipal de Caratinga (MG). Nesse cargo, vem realizando até o momento atendimentos ambulatoriais na Policlínica Municipal e domiciliares no Serviço de Assistência Domiciliar (SAD – Melhor em Casa).

Ainda em 2013, iniciou a Pós-Graduação *Lato Sensu* em Nutrição Esportiva Funcional pelo Centro de Nutrição Funcional, Universidade Cruzeiro do Sul (SP), concluindo o curso em março de 2015. Nesse período, ingressou como estudante não vinculada no Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição (PPGCN), do Departamento de Nutrição e Saúde da UFV. Ao final desse ano, foi aprovada no processo seletivo para o Mestrado, o qual teve início em março de 2016.

Em março de 2017, ingressou no curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Fitoterapia Funcional à distância, pelo Centro de Nutrição Funcional, Universidade Cruzeiro do Sul (SP), com previsão de conclusão em março de 2018.

Em fevereiro de 2018, pleiteou o título de Mestre em Ciência da Nutrição pela Universidade Federal de Viçosa.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	viii
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	xi
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT .....	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1. Produção e consumo de chás pela população.....	4
2.2. A legislação sobre chás no Brasil .....	5
2.3. Ação de ervas aromáticas.....	6
3. OBJETIVOS.....	11
3.1. Objetivo Geral .....	11
3.2. Objetivos Específicos .....	11
4. MATERIAS E MÉTODOS.....	12
4.1. Matéria prima .....	12
4.2. Delineamento Experimental .....	12
4.3. Coleta das amostras .....	12
4.4. Preparação das amostras .....	13
4.5. Preparação dos chás .....	13
4.6. Determinação da composição centesimal.....	14
4.7. Extração e análise de carotenoides .....	15
4.8. Extração e análise de vitamina C .....	17
4.9. Extração e análise de vitamina E .....	18
4.10. Determinação de minerais e metais pesados .....	19
4.11. Extração e análise de flavonoides .....	21
4.12. Determinação de compostos fenólicos totais.....	22
4.13. Determinação da capacidade antioxidante .....	23
4.16. Delineamento Experimental e análise estatística dos dados .....	25
4.17. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1. ARTIGO 1: NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS DE ALECRIM ( <i>Salvia rosmarinus</i> ) FRESCO, DESIDRATADO E SEUS CHÁS PREPARADOS POR INFUSÃO A QUENTE E GELADA .....	28

5.2. ARTIGO 2: MACRONUTRIENTES, VITAMINAS, MINERAIS E COMPOSTOS BIOATIVOS EM MANJERICÃO ( <i>Ocimum basilicum</i> ) FRESCO, DESIDRATADO E SUAS INFUSÕES QUENTE E GELADA .....	65
5.3. ARTIGO 3: HORTELÃ ( <i>Mentha spicata</i> ) FRESCO, DESIDRATADO E SUAS INFUSÕES A QUENTE E GELADA: OCORRÊNCIA E CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS. ....	99

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Representação do delineamento experimental. .... 29

### **Artigo Original 1:**

Figura 1: Representação fotográfica do Alecrim fresco ..... 49

Figura 2: Análise por CLAE de carotenoides em alecrim fresco (A) e desidratado (B); ácido ascórbico em alecrim fresco (C) e desidratado (D); vitamina E em alecrim fresco (E) e desidratado (F)..... 60

Figura 3: Representação fotográfica de porção de alecrim usualmente comercializada (5 gramas)..... 63

### **Artigo Original 2:**

Figura 1: Representação fotográfica do Manjericão fresco ..... 86

Figura 2: Análise por CLAE de carotenoides em manjericão fresco (A) e desidratado (B); ácido ascórbico em manjericão fresco (C) e desidratado (D); vitamina E em manjericão fresco (E) e desidratado (F)..... 97

### **Artigo Original 3:**

Figura 1: Representação fotográfica da hortelã comum ..... 120

Figura 2: Análise por CLAE de carotenoides em hortelã fresca (A) e desidratada (B); ácido ascórbico em hortelã fresca (C) e desidratada (D); vitamina E em hortelã fresca (E) e desidratada (F)..... 132

## LISTA DE TABELAS

### Artigo Original 1:

Tabela 1: Concentração de carotenoides, vitamina C e E do Alecrim fresco e desidratado .....	61
Tabela 2: Concentração de carotenoides e vitamina C das infusões quente e gelada de alecrim.....	63
Tabela 3: Concentração de minerais e metais pesados em alecrim desidratado .....	65
Tabela 4: Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante do alecrim fresco e desidratado .....	68
Tabela 5: Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante das infusões de alecrim quente e gelada.....	70
Tabela 6: Avaliação do potencial de contribuição da erva e infusões para atendimento das recomendações de vitaminas e minerais para homens adultos .....	71

### Artigo Original 2:

Tabela 1: Concentração de carotenoides, vitamina C e E do manjeriço fresco e desidratado .....	98
Tabela 2: Concentração de carotenoides e vitamina C das infusões de manjeriço quente e gelada.....	99
Tabela 3: Concentração de minerais e metais pesados do manjeriço desidratado .....	101
Tabela 4: Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante do manjeriço fresco e desidratado .....	103
Tabela 5: Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante das infusões de manjeriço quente e gelada.....	106
Tabela 6: Avaliação do potencial de contribuição da erva e infusões para atendimento das recomendações de vitaminas e minerais para homens adultos .....	108

### **Artigo Original 3:**

Tabela 1: Concentração de carotenoides, vitamina C e E da hortelã fresca e desidratada .....	133
Tabela 2: Concentração de carotenoides e vitamina C das infusões de hortelã quente e gelada.....	135
Tabela 3: Concentração de minerais e metais pesados da hortelã .....	137
Tabela 4: Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante da hortelã fresca e desidratada .....	140
Tabela 5: Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante das infusões de hortelã quente e gelada.....	141
Tabela 6: Avaliação do potencial de contribuição da erva e infusões para atendimento das recomendações nutricionais.....	142

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – Ácido ascórbico

Al – Alumínio

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*

ARR - Atividade de retirada de radical

Ca – Cálcio

Cd - Cádmiio

CLAE - DAD – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Detector Arranjo de Diodos

CLAE - Fluorescência – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Detector de Fluorescência

Cr – Cromo

Cu – Cobre

DIC - Delineamento Inteiramente Casualizado

DNS – Departamento de Nutrição e Saúde

DPPH - 2,2-difenil-2-picril-hidrazil

DRI - *Dietary Reference Intakes*

EVPC - Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás

FA – Fibra Alimentar

FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

Fe - Ferro

GAE – Equivalentes de ácido gálico

HCl – Ácido clorídrico

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICP - AES – Espectrofotometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado

IDR – Ingestão diária recomendada

IOM – *Institute of Medicine*

K - Potássio

LAV – Laboratório de Análise de Vitaminas

Mg – Magnésio

Mn – Manganês

Na – Sódio

P – Fósforo

RAE - Equivalente de Atividade de Retinol

RDC - Resolução de Diretoria Colegiada

S – Enxofre

SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences*

SVS/MS - Secretaria de Vigilância do Ministério da Saúde

UFV – Universidade Federal de Viçosa

VET – Valor Energético Total

Zn – Zinco

## RESUMO

ROBERTO, Poliana Miranda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Nutrientes e compostos bioativos de alecrim, manjeriçã e hortelã frescos, desidratados e de suas infusões quente e gelada.** Orientadora: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana. Coorientadora: Ceres Mattos Della Lucia.

Investigou-se a ocorrência e concentração de nutrientes e compostos bioativos de ervas (alecrim - *Salvia rosmarinus*, manjeriçã - *Ocimum basilicum* e hortelã - *Mentha spicata*) frescas, desidratadas e suas infusões a quente e gelada. A análise da composição centesimal e fibras foi feita de acordo com a AOAC (2012). Vitamina C, vitamina E, carotenoides e flavonoides foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. Minerais e metais pesados foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica em plasma indutivamente acoplado. Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foram analisados por espectrofotometria. Para análise estatística, utilizou-se o software SPSS, versão 23.0, adotando-se um nível de significância de 5%. O alecrim fresco apresentou elevada umidade (63,18%), baixa concentração de proteína (1,27 mg.100g<sup>-1</sup>) e boa concentração de fibras totais (19,15 g.100g<sup>-1</sup>), sendo destaque a insolúvel (15,86 g.100g<sup>-1</sup>). As concentrações de carotenoides totais, vitamina C, vitamina E total e flavonoides totais no alecrim fresco (em mg.100g<sup>-1</sup>) foram 28,48; 8,09; 12,55 e 422,89, respectivamente. Não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) quanto às concentrações de vitamina C, carotenoides, vitamina E, flavonoides, compostos fenólicos e capacidade antioxidante entre a erva fresca e desidratada e entre as infusões. No alecrim desidratado destacaram-se as concentrações de cromo (430,00 µg.100g<sup>-1</sup>), ferro (30,76 mg.100g<sup>-1</sup>), magnésio (270,00 mg.100g<sup>-1</sup>), potássio (2943,33 mg.100g<sup>-1</sup>) e cobre (960,00 µg.100g<sup>-1</sup>). Observou-se reduzida concentração de chumbo, alta concentração de alumínio, não sendo encontrados níquel e cádmio. O alecrim desidratado se mostrou fonte de potássio, cobre e vitamina E, boa fonte de ferro e magnésio e excelente fonte de cromo, além de boa capacidade antioxidante (77,18%), e as concentrações de vitamina C e A nas infusões foram reduzidas. O manjeriçã fresco apresentou elevada umidade (94,12%) e baixa concentração de lipídios (0,20 g.100g<sup>-1</sup>), carboidratos (5,25 g.100g<sup>-1</sup>) e fibras (2,33 g.100g<sup>-1</sup>). Verificou-se excelente retenção de β-caroteno na erva desidratada (101,24%). As concentrações de carotenoides, vitamina C, vitamina E total e

flavonoides totais no manjericão fresco (em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) foram 77,13; 4,01; 16,45 e 211,5, respectivamente. A luteolina e a naringenina foram os flavonoides encontrados em maior concentração no manjericão fresco e desidratado. Não houve diferença nas concentrações de vitamina E, C, fenólicos totais e capacidade antioxidante entre o manjericão fresco e o desidratado e entre as infusões ( $p>0,05$ ). O potássio e o cálcio foram os minerais encontrados em maior quantidade no manjericão desidratado (4170,00 e 1786,67  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , respectivamente). O manjericão desidratado se mostrou fonte de cobre, manganês e cálcio e boa fonte de ferro, potássio, cromo e vitamina A. As concentrações de vitaminas C e A nas infusões foram muito reduzidas. A hortelã fresca apresentou elevada concentração de umidade (90,17%), baixa de proteína (0,88  $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ), lipídios (0,33  $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) e fibras (4,59  $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ). Não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) quanto às concentrações de vitamina C e E, flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante entre a erva fresca e desidratada e entre as infusões gelada e quente. As concentrações de carotenoides totais, vitamina C, vitamina E total e flavonoides totais na hortelã fresca (em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) foram 40,74; 1,11; 1,77 e 150,09, respectivamente. A hortelã desidratada apresentou menor concentração de luteína ( $p<0,05$ ) e baixo percentual de retenção real (11,8%). As infusões da hortelã apresentaram quantidades reduzidas de vitaminas A e C. A erva desidratada destacou-se como fonte de magnésio, boa fonte de potássio e vitamina A e excelente fonte de ferro, cromo e manganês. Assim, as ervas aromáticas frescas e desidratadas podem contribuir para a ingestão de nutrientes e compostos bioativos importantes para a saúde humana, não sendo as infusões uma forma de consumo relevante para se atingir as recomendações de vitaminas A e C.

## ABSTRACT

ROBERTO, Poliana Miranda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Nutrients and bioactive compounds of fresh, dehydrated rosemary, basil and mint and their hot and cold infusions.** Advisor: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana. Co-advisor: Ceres Mattos Della Lucia.

The occurrence and concentration of nutrients and bioactive compounds of fresh herbs (rosemary - *Salvia rosmarinus*, basil - *Ocimum basilicum* and mint - *Mentha spicata*), and their hot and cold infusions were investigated. The centesimal composition and fibers analysis were made according to AOAC (2012). Vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids were analyzed by high performance liquid chromatography. Minerals and heavy metals were determined by inductively coupled plasma atomic absorption spectrophotometry. Total phenolic compounds and antioxidant capacity were analyzed by spectrophotometry. For statistical analysis, SPSS software version 23.0 was used, adopting a significance level of 5%. Rosemary fresh showed high humidity (63.18%), low protein concentration ( $1.27 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) and good total fiber concentration ( $19.15 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), especially insoluble fiber ( $15.86 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). The concentrations of total carotenoids, vitamin C, total vitamin E and total flavonoids in fresh rosemary (in  $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) were 28.48, 8.09, 12.55 and 422.89, respectively. There were no differences ( $p > 0.05$ ) in the concentrations of vitamin C, carotenoids, vitamin E, flavonoids, phenolic compounds and antioxidant capacity between fresh and dehydrated herb and between infusions. In the dehydrated rosemary, the concentrations of chromium ( $430.00 \text{ } \mu\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), iron ( $30.76 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), magnesium ( $270.00 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), potassium ( $2943.33 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) and copper ( $960.00 \text{ } \mu\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) highlighted. There was a low concentration of lead, high concentration of aluminum, and no nickel and cadmium were found. Dehydrated rosemary was a source of potassium, copper and vitamin E, a good source of iron and magnesium and an excellent source of chromium, as well as had good antioxidant capacity (77.18%), and vitamin C and A concentrations in the infusions were reduced. The basil fresh had high humidity (94.12%) and low concentration of lipids ( $0.20 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), carbohydrates ( $5.25 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) and fibers ( $2.33 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). There was an excellent retention of  $\beta$ -carotene in the dehydrated herb (101.24%). The concentrations of total carotenoids, vitamin C, total vitamin

E and total flavonoids in fresh basil (in mg.100g<sup>-1</sup>) were 77.13; 4.01; 16.45 and 211.50, respectively. Luteolin and naringenin were the flavonoids found in higher concentration in fresh and dehydrated basil. There was no difference in vitamin E, C, total phenolic and antioxidant capacity between fresh and dehydrated basil and between infusions ( $p > 0.05$ ). Potassium and calcium were the most found minerals in dehydrated basil (4170.00 and 1786.67 mg.100g<sup>-1</sup>, respectively). Dehydrated basil was found to be a source of copper, manganese and calcium and a good source of iron, potassium, chromium and vitamin A. The concentrations of vitamins C and A in the infusions were very low. Mint fresh presented high concentration of moisture (90.17%), low protein (0.88 g.100g<sup>-1</sup>), lipids (0.33 g.100g<sup>-1</sup>) and fibers (4.59 g.100g<sup>-1</sup>). No differences ( $p > 0.05$ ) were observed for vitamin C and E concentrations, flavonoids, total phenolics and antioxidant capacity between fresh and dehydrated herb and between hot and cold infusions. The concentrations of total carotenoids, vitamin C, total vitamin E and total flavonoids in fresh mint (in mg.100g<sup>-1</sup>) were 40.74; 1.11; 1.77 and 150.09, respectively. The dehydrated mint presented lower concentration of lutein ( $p < 0.05$ ) and low percentage of real retention (11.8%). The mint infusions showed reduced amounts of vitamins A and C. The dehydrated herb stood out as a source of magnesium, a good source of potassium and vitamin A and excellent source of iron, chromium and manganese. Thus, fresh and dehydrated herbs can contribute to the ingestion of nutrients and bioactive compounds important for human health, and infusions are not a relevant form of consumption to reach the recommendations of vitamins A and C.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos, têm-se investigado os efeitos de nutrientes e compostos bioativos de plantas e alimentos em diversas enfermidades. Tais pesquisas têm tentado explicar os benefícios desses compostos com ação anti-inflamatória, antioxidante, antialérgica e antiobesidade (HU et al., 2009; RODRIGUES, 2015).

Neste contexto, destacam-se as ervas aromáticas utilizadas como chás e condimentos, as quais têm atraído muita atenção devido à sua capacidade antioxidante e sua abundância na dieta de milhares de pessoas em todo o mundo. Estudos demonstram que diversas ervas aromáticas são ricas em catequinas, flavonoides, vitaminas (C e complexo B) e compostos fenólicos, apresentando propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e antitumoral, as quais são importantes para a saúde e prevenção de doenças, como as coronariopatias (AKKOL et al., 2008; AFONSO, SANT'ANA & MANCINI-FILHO, 2010; GUILARDUCCI, 2016).

Destaca-se que a presença de fitoquímicos é amplamente influenciada por diversos fatores, entre eles, variedade, condições climáticas e edáficas, fatores genéticos e estágio de maturação. Além disso, os compostos bioativos estão susceptíveis às reações de oxidações ocorridas durante o processamento e estocagem de alimentos, uma vez que alguns destes compostos são instáveis a luz, temperatura, ar, entre outros processamentos (GONÇALVES, SANTOS e MORAIS, 2015).

As ervas aromáticas, podem ser consideradas substâncias com alegação de propriedade funcional, visto que desempenham ações benéficas, modulando funções bioquímicas e fisiológicas, que podem resultar em maior proteção à saúde, retardando processos patológicos e de envelhecimento (GUILARDUCCI, 2016).

De acordo com a legislação brasileira, chás são produtos constituídos de partes de vegetais, inteiras, fragmentadas ou moídas, obtidos por processos tecnológicos adequados a cada espécie, sendo utilizados para a preparação de bebidas alimentícias por infusão (processo que consiste em verter líquido sobre as ervas aromáticas) ou decocção (ferver as ervas aromáticas juntamente com o líquido) em água potável, não podendo ter finalidades farmacoterapêuticas (BRASIL, 2005). Entretanto, Lorenzi e Matos (2002) observaram que, das 47

espécies de plantas determinadas pela RDC nº 77, de 2005, 23 são consideradas “plantas medicinais” por serem utilizadas na medicina popular (caseira ou tradicional).

Segundo Teixeira et al. (2014) aproximadamente 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam algum tipo de medicina tradicional e, dentre essas, se encontra o consumo de chás medicinais.

Em plantas utilizadas como chás, as atividades biológicas estão associadas, em parte, com a ação antioxidante dos compostos químicos. A eficácia dessa capacidade depende da espécie da erva, da quantidade e tipo de compostos fenólicos presentes (DAMIANI et al., 2014; ZIELINSKI et al., 2014).

Dessa forma, especiarias e chás têm sido reconhecidos pelos benefícios à saúde humana pela presença de compostos bioativos e suas propriedades nutricionais e antioxidantes, interrompendo a cadeia oxidativa, devido à presença de flavonoides, vitaminas, minerais e polifenóis naturais, constituintes essenciais desses produtos. Essas substâncias podem promover melhora da recuperação após o exercício físico, manutenção da resposta imune, além de controle do estresse oxidativo (ROGINSKY e LISSI, 2005; BAKKALI et al, 2008).

No entanto, ainda são escassos estudos que avaliam a composição nutricional e as propriedades funcionais de chás e ervas, diante disso, da popularidade do alecrim, manjerição e hortelã no uso culinário e na medicina popular, demonstrou-se interesse em conhecer a composição nutricional dos mesmos e sua contribuição para a ingestão de micronutrientes e compostos bioativos essenciais à saúde, uma vez que essas ervas são frequentemente utilizadas pela população brasileira na forma de chás e condimentos.

O processamento pode alterar o conteúdo de compostos e a capacidade antioxidante. A armazenagem e processamento podem levar a perda de antioxidantes naturalmente presentes, melhorar a capacidade antioxidante de compostos bioativos, formar novos compostos com atividade antioxidante ou pró-oxidante ou não alterar os compostos bioativos da erva (NICOLI, et al., 1999).

Alguns estudos mostram que o processamento de ervas e chás, principalmente os que empregam altas temperaturas em curto período de tempo, podem aumentar a disponibilidade de compostos fenólicos, carotenoides e a atividade antioxidante. Porém para os flavonoides e as vitaminas, não há perdas

significativas, ou observa-se uma redução após o processamento (MAZZEO et al., 2011; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ et al., 2013; MIGLIO et al., 2008).

Diante do exposto, torna-se relevante o estudo de ervas aromáticas, contribuindo para o avanço nas pesquisas sobre nutrientes e compostos bioativos em chás e ervas aromáticas frescas e desidratadas, fornecendo informações que possam subsidiar o efeito benéfico do consumo destas ervas na saúde humana.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1. Produção e consumo de chás pela população**

Os primeiros relatos do consumo de chá datam do século XXVII a.C., sendo uma das bebidas mais antigas, produzidas por via biotecnológica, praticada pelo ser humano e uma das mais consumidas do mundo, referidas como uma das melhores fontes de compostos fenólicos (LIMA et al., 2004).

Originário da China, o chá é cultivado e consumido pelas suas características de aroma, sabor e propriedades medicinais em mais de 160 países, especialmente os asiáticos (SAITO e MIYATA, 2000; KUMUDAVALLY et al., 2008; NISHIYAMA et al., 2010).

O consumo se difundiu na Ásia e das colônias para as metrópoles. Em meados do século XVII, os ingleses divulgaram e popularizaram a bebida para o resto do mundo. O chá majoritariamente produzido no mundo é o chá preto, com 78% da produção, sendo consumido em todo o mundo, seguido do chá verde com 20% da produção mundial e consumido principalmente nos países asiáticos. O chá Oolong representa 2% da produção mundial e é consumido com frequência no sul da China (HAYAT et al., 2015).

O consumo de outras infusões tem crescido devido ao aumento da preocupação com a saúde, uma vez que podem apresentar propriedades sedativas, relaxantes ou estimulantes (LASEKAN e LASEKAN, 2012). Podem também contribuir para a redução do risco de doenças crônicas, devido à composição em antioxidantes e polifenóis (DEL RIO et al., 2010).

Além de seu aroma atraente e sabor específico, a popularidade dos chás também é resultado de suas propriedades potencialmente promotoras da saúde (HORZIC et al. 2009; BAE et al., 2015). As formas de consumo variam entre os países, em alguns casos puro, com açúcar, com leite e com limão (MORAES-DE-SOUZA, 2007).

O estudo da composição nutricional de chás medicinais vem merecendo destaque nas últimas décadas a fim de se conhecer seus efeitos benéficos à saúde humana (HUSSAIN et al., 2009).

## **2.2. A legislação sobre chás no Brasil**

No Brasil, a Secretaria de Vigilância do Ministério da Saúde, em sua Portaria SVS/MS nº 519, de 26 de junho de 1998, aprovou o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chás – Plantas Destinadas à Preparação de Infusões ou Decocções. Essa legislação define chás como “produtos constituídos de partes de vegetais, inteiras, fragmentadas ou moídas, obtidos por processos tecnológicos adequados a cada espécie, utilizados exclusivamente na preparação de bebidas alimentícias por infusão (preparação em água, em temperatura a 90°C, vertendo as ervas aromáticas, que devem permanecer em repouso por tempo determinado) ou decocção (preparação em que as ervas aromáticas são mergulhadas na água fria e mantidas até atingir a temperatura de 90°C), não podendo ter finalidades farmacoterapêuticas (finalidade de atuar como medicamento), prevenindo ou tratando doenças e/ou sintomas”.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 277, de 22 de setembro de 2005, aprovou o “Regulamento Técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis”, definindo chá como: “produto constituído de uma ou mais partes de espécies vegetais inteiras, fragmentadas ou moídas, com ou sem fermentação, tostadas ou não, constantes de Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de chás”. Dessa forma, abordaram-se as tecnologias utilizadas para obtenção, restringindo os chás às espécies vegetais.

No Brasil, o chá é popularmente considerado, de acordo com a RDC 277/05, tanto como produto do processamento de vegetais, quanto pela bebida obtida por decocção ou infusão, de alguma planta ou partes dela (BRASIL, 2005).

A RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005, trata, por sua vez, trata do “Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás (EVPC)” e aponta 47 espécies. Essa Resolução reforça a exclusão das espécies com finalidade medicamentosa e/ou terapêutica, porém Lorenzi e Matos (2002) observaram que, das 47 espécies, 23 são consideradas “plantas medicinais” por serem utilizadas na medicina popular (caseira ou tradicional).

### **2.3. Ação de ervas aromáticas**

Ervas aromáticas são importantes antioxidantes naturais (HRAS et al., 2000). A ação antioxidante tem sido atribuída à presença de compostos fenólicos polares e óleos essenciais (DEMO et al., 1998; GUERRA, LAJOLO, 2005; SILVA, 2011). O processo de infusão a quente utilizado na preparação de chás contribui para a extração dos compostos fenólicos, considerados benéficos à saúde (HIGDON e FREI, 2003; MANDEL e YAUDIM, 2004; BUNKOVA et al., 2005; MORAIS et al., 2009).

Os componentes químicos das folhas de chá incluem compostos fenólicos (catequinas, flavonoides e taninos), alcaloides (cafeína, teobromina, teofilina, etc.), óleos voláteis, polissacarídeos, aminoácidos, lipídios, vitaminas (C, complexo B), carotenoides, elementos inorgânicos, dentre outros (SHARANGI, 2009; RODRIGUES, 2015).

Diversas ervas aromáticas/especiarias são capazes de melhorar a estabilidade oxidativa de produtos, além de possuírem a vantagem de agregar sabor às preparações culinárias, intensificando características sensoriais e aumentando sua aceitabilidade. Os componentes responsáveis pela estabilidade oxidativa (antioxidantes) têm sido identificados em várias especiarias, tais como alecrim, sálvia, tomilho, cravo-da-índia, dentre outras (GENENA, 2005).

Devido à ação antioxidante e também antimicrobiana, há anos especiarias e ervas são usadas para aumentar o tempo de prateleira de alimentos, além de se destacarem por suas propriedades antissépticas, microbianas, medicinais e farmacológicas, como envelhecimento precoce, câncer, doenças crônicas não transmissíveis (ZHENG et al., 2001; GÓMEZ, 2003; PEREIRA e PINHEIRO, 2013).

Diante dos relatos da literatura e mesmo com a realização de diversos estudos a respeito dos constituintes fenólicos em numerosas plantas, os dados de composição química daquelas utilizadas como chás ainda são insuficientes, mostrando a importância de estudos nessa área.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, M. da S; SANT'ANA, L.a S; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) perspectives. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 35, n. 1, p. 129-148, 2010.

AKKOL, E. K. et al. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. **Food and Chemical Toxicology**, v. 108, n. 3, p. 942–949, 2008.

BAE, I. K. et al. Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using RP-HPLC/UV detection: method development and optimization of extraction process. **Food chemistry**, v. 172, p. 469-475, 2015.

BAKKALI, et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food Chemistry**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BARBOSA, N. C. **Uma revisão bibliográfica dos fatores antinutricionais: taninos, inibidores de proteases e lectinas**. Anápolis: IFG, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº. 267, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “**Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de chás**”. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 30 out 2016.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria SVS/MS nº 519 de 26 de junho de 1998. Aprova o “**Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chás – Plantas Destinadas à Preparação de Infusões ou Decocções**”. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 30 out 2016.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC nº 23, de 15 de fevereiro de 2005. **Aprova "Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras - subcategoria creme vegetal e margarinas"**, <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/aditivos.htm>,> Acesso em 20 de setembro de 2016.

BUNKOVA, R.; M, I.; NEMEC, M. Antimutagenic properties of green tea. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 25-29, 2005.

DAMIANI, E. et al. Antioxidant activity of different white teas: Comparison of hot and cold tea infusions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, n. 1, p. 59-66, 2014.

DEL RIO, D. et al. Bioavailability of catechins from ready-to-drink tea. **Nutrition**, v. 26, p. 528 – 533, 2010.

DEMO, A. et al. Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. **Food Research International**, v. 31, n. 5, p. 351-354, 1998.

GENENA, A. K. et al. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): estudo de sua ação antioxidante**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Florianópolis. 2005.

GÓMEZ, B; ELENA, M. **Modulação da composição de ácidos graxos polinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos - Área de Bromatologia, Universidade de São Paulo, p. 149, 2003.

GONÇALVES, J. H. T. SANTOS, A. S. MORAIS, H. A. Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 13, n. 1, p. 486-497, 2015.

GUERRA, N. B.; LAJOLO. F. M. Ação antioxidante de especiarias face diferentes atividades de água. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 25, n. 1, p.45-50, 2005.

GUILARDUCCI, N. V. et al. Efeito da administração oral de extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* L.(alecrim) no desenvolvimento do Tumor Sólido de Ehrlich. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 10, n. 1, p. 23-32, 2016.

HAYAT, K.M et al. Tea and Its Consumption: Benefits and Risks. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 7, p. 939-954, 2015.

HIGDON J. V.; FREI, B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 89-143, 2003.

HORŽIĆ, Dunja et al. The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. **Food chemistry**, v. 115, n. 2, p. 441-448, 2009.

HRAŠ, A. R et al. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food chemistry**, v. 71, n. 2, p. 229-233, 2000.

HU, B. et al. Efficient procedure for isolating methylated catechins from green tea and effective simultaneous analysis of ten catechins, three purine alkaloids, and gallic acid in tea by high-performance liquid chromatography with diode array detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 15, p. 3223-3231, 2009.

HUSSAIN, J. et al. Assessment of herbal products and their composite medicinal plants through proximate and micronutrients analyses. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n.12, p. 1072-1077, 2009.

KUMUDAVALLY, K. V. et al. Green tea—A potential preservative for extending the shelf life of fresh mutton at ambient temperature ( $25\pm 2$  C). **Food chemistry**, v. 107, n. 1, p. 426-433, 2008.

LASEKAN, O.; LASEKAN, A. Flavour chemistry of mate and some common herbal teas. **Trends in Food Science & Technology**, v. 27, n. 1, p. 37-46, 2012.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Nota prévia: concentração de compostos fenólicos totais em chás brasileiros. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 7, n. 2, p. 187-190, 2004.

LORENZI, Harri; MATOS, Francisco J.; FRANCISCO, J. Matos. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2002.

MADSEN, H.L. et al. Screening of antioxidants between assays based on ESR spin trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption. **Food Chemistry**, New York, v.57, n.2, p.331-337, 1996.

MANDEL, S; YODIM, M B. H. Catechin polyphenols: neurodegeneration and neuroprotection in neurodegenerative diseases. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, n. 3, p. 304-317, 2004.

MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G. B et al. Innovative cooking techniques for improving the overall quality of kailan-hybrid broccoli. **Food Bioprocess and Technology**. v. 6, p. 2135-2149, 2013.

MAZZEO, T et al. Effect of two cooking procedures on phytochemical compounds, total antioxidant capacity and colour of selected frozen vegetables. **Food Chemistry**. v. 128, p. 627-633, 2011.

MIGLIO, C et al. Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 56, p. 139-147, 2008.

MORAES-DE-SOUZA, Rodrigo Aparecido. **Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, 2007.

MORAIS, S. M. et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Brazilian Journal Pharmacognosy**, v. 19, n. 1B, p. 315-320, 2009.

NICOLI, M. C.; ANESE, M.; PAPPALARDI, M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. **Trends Food Science and Technology**.v. 10, p. 94-100, 1999.

NISHIYAMA, M. F. et al. Brazilian green tea (*Camellia sinensis* var *assamica*): effect of infusion time, mode of packaging and preparation on the extraction efficiency of bioactive compounds and on the stability of the beverage. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, p. 191-196, 2010.

PEREIRA, D; PINHEIRO, R. S. **Elaboração de hambúrgueres com antioxidantes naturais oriundos de extratos etanólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)**. Dissertação de Mestrado. 2013.

RODRIGUES, V. de C. **Compostos bioativos de chás: comparação das infusões a quente e a frio**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Departamento Acadêmico de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Curitiba, 2015.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, n.2, p. 235-254, 2005.

SATO, T; MIYATA, Go. The nutraceutical benefit, part I: green tea. **Nutrition**, v. 16, n. 4, p. 315-317, 2000.

SHARANGI, A. B. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.)—A review. **Food Research International**, v. 42, n. 5, p. 529-535, 2009.

SILVA, D. **A Química dos Chá: Uma temática para o ensino de química orgânica**. Dissertação. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-graduação em Educação em Ciências: Química da vida e saúde. UFSM- RS, 2011.

TEIXEIRA, G. S. et al. Plantas Medicinais, Fitoterápicos e/ ou Nutracêuticos Utilizados no Controle da Obesidade. **Boletim do Grupo em Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, v.1, n. 6, p. 27- 42, 2014.

YEPEZ, B.; ESPINOSA, M.; LÓPEZ, S.; BOLAÑOS, G. Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. **Fluid Phase Equilibria**, v. 194–197, n. [s/n], p. 879–884, 2002.

ZHENG, W; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

ZIELINSKI, A. A. F. et al. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. **Journal of food science**, v. 79, n. 4, p. C510-C516, 2014.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Investigar a ocorrência e concentração de nutrientes e compostos bioativos em ervas aromáticas, utilizadas como chás e condimentos, na forma fresca e desidratada e preparadas em infusão em água quente e em água gelada.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- Determinar a composição centesimal (umidade, proteína, lipídios, carboidratos e fibras) nas seguintes ervas aromáticas na forma desidratada: alecrim (*Salvia rosmarinus*), manjericão (*Ocimum basilicum*) e hortelã (*Mentha spicata*);
- Analisar a ocorrência e concentração de carotenoides (luteína e  $\beta$ -caroteno), vitamina C (na forma de ácido ascórbico) e vitamina E ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferóis e tocotrienóis) nas três ervas aromáticas na forma fresca, desidratada, assim como nas infusões em água quente e em água gelada preparadas a partir das referidas ervas;
- Determinar a concentração de minerais (magnésio, potássio, zinco, sódio, cálcio, manganês, cobre, ferro, cromo, enxofre e fósforo) e de metais pesados (chumbo, cádmio, níquel e alumínio) nas ervas aromáticas na forma desidratada;
- Analisar a presença e concentração de flavonoides (flavonas e flavanonas) nas ervas aromáticas na forma fresca, desidratada e nas infusões;
- Determinar a concentração de compostos fenólicos totais e ação antioxidante nas ervas aromáticas na forma fresca, desidratada e nas infusões;
- Comparar a concentração dos componentes analisados nas ervas aromáticas fresca e desidratadas e nas bebidas obtidas por meio das infusões em água quente e em água gelada;
- Avaliar o potencial de contribuição das ervas aromáticas e infusões para o atendimento às recomendações de vitaminas A, C, E e minerais para adultos de 18 a 59 anos de idade.

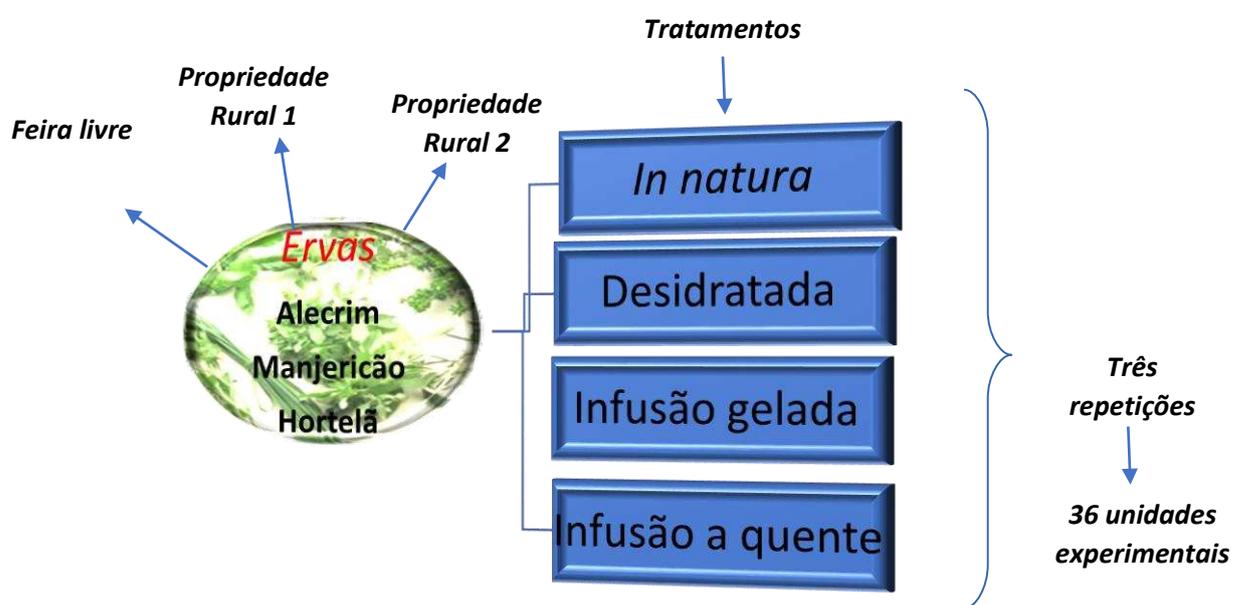
## 4. MATERIAS E MÉTODOS

### 4.1. Matéria prima

Foram realizadas análises das seguintes ervas aromáticas utilizadas como chás e condimentos: alecrim (*Salvia rosmarinus*), manjerição (*Ocimum basilicum*) e hortelã (*Mentha spicata*).

### 4.2. Delineamento Experimental

Trata-se de um estudo transversal, em que as concentrações de nutrientes e de compostos bioativos das três ervas aromáticas na forma fresca e desidratada e submetidas à infusão em água quente e em água gelada foram avaliadas utilizando o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Para cada erva, foram utilizados 4 tratamentos (fresca, erva desidratada, infusão a quente e infusão em água gelada) e 3 repetições (representadas pelos pontos de coleta: uma feira livre e duas propriedades rurais), totalizando 36 unidades amostrais (Figura 1).



**Figura 1:** Representação do delineamento experimental.

### 4.3. Coleta das amostras

Foram coletados, de maneira aleatória, em vários pontos dos ramos e canteiros, entre 200 g e 400 g de cada erva em uma feira e na propriedade de dois agricultores do município de Viçosa, Minas Gerais, entre os meses de

Janeiro a Maio de 2017. Cada erva foi coletada 3 vezes, constituindo 3 repetições.

Após a coleta, as ervas aromáticas foram identificadas, embaladas em sacos plásticos transparentes, envolvidas em papel alumínio, colocadas em caixa de isopor e transportadas para o Laboratório de Análise de Vitaminas (LAV) do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (DNS-UFV).

#### **4.4. Preparação das amostras**

Ao chegarem ao LAV, as amostras passaram por um processo de seleção das folhas, retirando caules e folhas danificadas, com o auxílio de faca doméstica. Em seguida, foram lavadas em água corrente e secas com auxílio de papel toalha, retirando o excesso de umidade, protegidas da luz e armazenadas em geladeira (Brastemp  $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), até o momento das análises de umidade, carotenoides, vitaminas e flavonoides, que ocorreram entre 1 e 2 dias. As folhas foram homogeneizadas com auxílio de processador doméstico (Philips Walita, RI7625 Compacto 2 em 1 - 500W).

Para analisar na forma desidratada, as ervas, imediatamente após chegarem ao LAV e serem higienizadas, conforme procedimento acima, passaram por processo de secagem em estufa (Quimis, Q320 M model, Brazil) a  $80^{\circ}\text{C}$  por 3 horas e armazenadas em freezer (Brastemp  $-18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) até o momento das análises. As análises de macronutrientes, fibras e minerais, foram realizadas nas ervas na forma desidratada, nos laboratórios de Análise de Alimentos e Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizantes, do Departamento de Solos (UFV-MG), respectivamente.

#### **4.5. Preparação dos chás**

As técnicas de preparação dos chás foram realizadas pela infusão em água quente e gelada de acordo com a metodologia de Zielinski et al. (2014).

Para infusão em água quente, 2,0 gramas de amostra desidratada foram extraídas com 100 mL de água destilada a  $80^{\circ}\text{C}$ . A água foi aquecida em bquer de vidro, e 100 mL foram vertidos em um erlenmeyer e, posteriormente, as ervas

aromáticas foram colocadas, deixando sob agitação magnética durante 7,5 minutos.

A infusão em água gelada foi realizada com 2,0 gramas de amostra desidratada em 100 mL de água destilada, em temperatura de 7 a 10°C. A água foi colocada em um erlenmeyer e, posteriormente, as ervas foram colocadas em imersão por cerca de 15 minutos, sob agitação magnética.

Todos os extratos foram filtrados em papel filtro quantitativo 125 milímetros (Unifil) e transferidos para Tubos Falcon e imediatamente congelados a -20°C até análise posterior. A partir deste material, foi retirada uma alíquota para análise.

Para análise, as amostras ficaram protegidas da luz solar e artificial e do oxigênio, por meio de vidrarias âmbar, papel alumínio, cortinas do tipo “blackout” e ambiente de gás nitrogênio.

#### **4.6. Determinação da composição centesimal**

Umidade, cinzas, proteínas e lipídios foram determinados em triplicata, de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists* e fibra alimentar (total, solúvel e insolúvel) foi analisada em duplicata, segundo a AOAC (2012).

A umidade foi determinada a 105°C por meio de estufa com circulação forçada de ar (Nova Ética®, Modelo 400 / 6ND, São Paulo, Brasil) e as cinzas em forno mufla a 550°C (Quimis®, Q320 M model, Brasil), até peso constante. Para extração de lipídios, foi utilizado o método de extração a quente com extrator do tipo Soxhlet e éter de petróleo. Já as proteínas foram determinadas pelo método micro-Kjeldahl, após a quantificação do nitrogênio total, seguida de conversão para concentração de proteínas a partir da multiplicação pelo fator 6,25 (AOAC, 2005).

As fibras alimentares totais, solúveis e insolúveis foram determinadas pelo método enzimático gravimétrico. Os carboidratos foram determinados pela diferença entre o total da amostra (100%) e a concentração de proteína, lipídio, umidade, cinzas e fibra alimentar total (Fórmula: 100 - % umidade - % lipídios - % fração proteica - % cinzas - % fração fibra alimentar total). O valor calórico total foi estimado utilizando-se os valores de conversão para carboidratos (4,0 kcal/g), lipídios (9,0 kcal/g) e proteínas (4,0 kcal/g) (BUCHHOLZ e SCHOELLER, 2004).

#### **4.7. Extração e análise de carotenoides**

Os carotenoides (luteína e  $\beta$ -caroteno) foram extraídos segundo o método de Rodriguez-Amaya (2001), com adaptações.

Para extração dos carotenoides das ervas, foram pesados 2,5 gramas de amostras desidratadas e 5 gramas das amostras frescas, os quais foram homogeneizados em 15 mL de acetona resfriada, com o auxílio de um microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) por 5 minutos. A suspensão obtida foi filtrada a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. Em seguida, o procedimento de extração foi repetido por mais duas vezes adicionando-se 15 mL de acetona resfriada ao resíduo, com posterior homogeneização e filtração a vácuo.

Em seguida, foi realizada a partição dos carotenoides da acetona para o éter de petróleo. O filtrado foi transferido, em três frações, para um funil de separação contendo 50 mL de éter de petróleo resfriado. Após a transferência de cada fração, adicionaram-se aproximadamente 100 mL de água destilada, repetindo o processo por três vezes, para a separação de fases (carotenoides-éter de petróleo e acetona-água), sendo a fase inferior (acetona-água) descartada. Acrescentou-se sulfato de sódio anidro ao extrato etéreo para remoção de qualquer resíduo de água. Posteriormente, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Tecnal, TE-211) a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , transferido para um balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume completado com éter de petróleo e armazenados em frasco âmbar no freezer. Pipetaram-se 5 mL da amostra em béquer âmbar e este volume foi evaporado em nitrogênio, retomando-se em 2 mL de acetona grau HPLC e, em seguida, filtrado em unidades filtrantes (0,45  $\mu\text{m}$ , Millipore, Brasil), sendo injetados 30  $\mu\text{L}$  na coluna cromatográfica.

Para extração dos carotenoides dos chás, dois gramas de amostras desidratadas foram pesados e destinados ao preparo dos chás, conforme item 4.5. A infusão foi filtrada em papel de filtro, sendo 20 mL homogeneizados em 20 mL de acetona resfriada, com o auxílio de um microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) por 5 minutos. O volume final foi filtrado a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro, não tendo resíduo no tubo de extração (adaptado de Rodriguez-Amaya, 2001).

Em seguida, foi realizada a partição dos carotenoides da acetona para o éter de petróleo. O filtrado foi transferido, em três frações, para um funil de

separação contendo 50 mL de éter de petróleo resfriado. Após a transferência de cada fração, adicionaram-se, aproximadamente, 100 mL de água destilada para a separação de fases (carotenoides-éter de petróleo e acetona-água), sendo a fase inferior (acetona-água) descartada. Acrescentou-se sulfato de sódio anidro ao extrato etéreo para remoção de qualquer resíduo de água. Posteriormente, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Tecnal, TE-211) a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , transferidos para um balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume completado com éter de petróleo armazenados em frascos âmbar no freezer ( $-18^\circ\text{C}$ ). Pipetaram-se 2 mL da amostra em béquer âmbar, sendo o volume evaporado em nitrogênio, retomando-se em 2 mL de acetona grau HPLC e, em seguida, filtrado em unidades filtrantes (0,45  $\mu\text{m}$ , Millipore, Brasil), sendo injetados 300  $\mu\text{L}$  na coluna cromatográfica para análise.

As análises de carotenoides ocorreram conforme proposto por Pinheiro-Sant'Ana et al. (1998). Utilizou-se sistema de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE- DAD), (Shimadzu, SPD-M10A, Japão) coluna cromatográfica Phenomenex Gemini (250 x 4 mm i.d., 5  $\mu\text{m}$ ), munida de coluna de guarda Phenomenex ODS (C18) (4mm x 3mm), fase móvel composta por metanol: acetato de etila: acetonitrila (80:10:10); eluição isocrática; fluxo da fase móvel de 2,0 mL/min. O tempo de corrida foi de 12 min e os cromatogramas foram obtidos em comprimento de onda de 450 nm.

A identificação dos carotenoides foi realizada pela comparação dos tempos de retenção de padrões autênticos (Aldrich<sup>®</sup>, Alemanha) e dos picos de interesse nas amostras e pelos espectros de absorção dos padrões e dos picos de interesse das amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando curvas analíticas construídas a partir da injeção, de seis diferentes concentrações de soluções padrão (equação:  $\beta$ -caroteno  $y = 7.226.117,93x + 6.568,38$ ,  $R^2 = 1,00$  e luteína  $y = 3.549.000,7x + 294.805,76$ ,  $R^2 = 1,00$ ). Os carotenoides foram expressos em  $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de amostra, como componentes isolados e como soma de carotenoides.

O valor de vitamina A foi calculado segundo as recomendações do *U. S. Institute of Medicine* (2011) em que 1 Equivalente de Atividade de Retinol (*RAE*) corresponde a 1  $\mu\text{g}$  de retinol; 12  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno; 24  $\mu\text{g}$  de outros carotenoides pró-vitamínicos.

#### 4.8. Extração e análise de vitamina C

As condições utilizadas para extração e análise de vitamina C, na forma de ácido ascórbico (AA), foram as otimizadas por Campos et al. (2009).

Para extração de vitamina C nas ervas foram pesados 2,5 gramas de erva desidratada e 5 g de erva fresca, aos quais foram adicionados 15 mL de solução extratora (ácido metafosfórico 3%, ácido acético 8%, ácido sulfúrico 0,3 N e EDTA 1 mM). A mistura foi homogeneizada em microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) durante 5 minutos. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas (Nuve® NF 1200R Bench-Top Centrifuge) a 2349 g por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e filtrado a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro. Em seguida este filtrado foi transferido para um balão volumétrico, sendo o volume completado para 25 mL com água ultrapura.

Para extração de vitamina C das infusões (preparadas de acordo com o item 4.5), após ser filtrada em papel de filtro, 20 mL da infusão foram adicionados de 15 mL da solução extratora, procedendo-se as mesmas etapas da extração propostas por Campos et. al. (2009).

Para análise do AA, as condições cromatográficas utilizadas foram: sistema CLAE-DAD (Shimadzu, SPD-M10A, Japão); coluna cromatográfica RP-18 Synergy Hidro 100, 250 x 4,6 mm, 5 µm, munida de coluna de guarda (C 18,4 mm x 3 mm Phenomenex); fase móvel composta por 1 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM EDTA, pH ajustado a 3,00 com ácido fosfórico e fluxo de 1,0 mL/minuto. O tempo de corrida foi de 7 minutos e o volume de injeção de 100 a 300 µL. Os cromatogramas foram obtidos em comprimento de onda de 245 nm.

A identificação do AA foi realizada pela comparação entre os tempos de retenção de padrão autêntico (Proquímios), do pico de interesse nas amostras e pelos espectros de absorção dos padrões e picos de interesse das amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando curva analítica construída pela injeção, em duplicata, de uma solução padrão de concentração conhecida, com cinco injeções, com variação no volume (equação:  $y = 2.055.977,81x - 69.549,76$   $R^2 = 1,00$ ). A concentração de vitamina C foi expressa em mg.100g<sup>-1</sup>.

#### 4.9. Extração e análise de vitamina E

A extração e análise dos componentes da vitamina E ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ -tocoferóis e tocotrienóis) foram realizadas apenas nas ervas frescas e desidratadas. Não foi realizada análise de vitamina E nos chás, uma vez que o protocolo utilizado no Laboratório de Análise de Vitaminas – DNS- UFV não é validado para análises em meio aquoso. Além da vitamina em questão ser lipossolúvel e os reagentes utilizados no métodos não serem capazes de extrair a vitamina em água.

O método baseou-se em Pinheiro-Sant'Ana et al. (2011), com algumas modificações. Dez gramas de cada amostra fresca e cinco gramas das amostras desidratadas foram adicionados de 4 mL de água ultrapura aquecida ( $80 \pm 1^\circ\text{C}$ ), 10 mL de isopropanol, 1 mL de hexano contendo 0,05% de BHT, 5 g de sulfato de sódio anidro e 25 mL da mistura solvente de extração (hexano: acetato de etila, 85:15, v/v). Posteriormente, a suspensão foi homogeneizada utilizando-se microtritador (IKA T 18<sup>®</sup> Ultra Turbax), durante 1 minuto. Em seguida, a suspensão foi filtrada a vácuo em funil de Büchner utilizando-se papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. A etapa de extração foi repetida, adicionando-se ao resíduo 5 mL de isopropanol e 30 mL da mistura solvente de extração, com posterior homogeneização por 1 minuto. Após, rinsou-se a haste do triturador com 10 mL da solução extratora e realizou-se a filtração a vácuo. Em seguida, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Quimis, modelo 344.1), a  $70 \pm 1^\circ\text{C}$  (2 minutos), transferido para balão volumétrico e o volume completado para 25 mL com mistura solvente de extração.

Após a extração, alíquotas de 5 mL do extrato foram secas em nitrogênio gasoso, redissolvidas em 2 mL de hexano grau HPLC e filtradas utilizando-se unidades filtrantes de porosidade 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore, Brasil).

As análises de vitamina E nas ervas foram realizadas injetando-se 1, 10 ou 30  $\mu\text{L}$  dos extratos. As condições cromatográficas utilizadas incluíram: sistema CLAE (Shimadzu, SCL 10AD VP); detector de fluorescência (290 nm de excitação e 330 nm de emissão); coluna cromatográfica Phenomenex Luna Si100 (250 x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) acoplada de coluna de guarda Phenomenex Si100 (4 x 3 mm); fase móvel – hexano: isopropanol: ácido acético glacial (98,9: 0,6: 0,5, v/v/v); fluxo da fase móvel de 1,0 mL/min e tempo de corrida de aproximadamente 21 minutos.

A identificação dos componentes da vitamina E foi realizada comparando-se o tempo de retenção dos padrões autênticos (Calbiochem, EMD Biosciences Inc. EUA) e dos componentes de interesse nas amostras, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa por meio da comparação das áreas dos picos com aquelas obtidas nas curvas analíticas construídas a partir da injeção, em duplicata, de seis diferentes concentrações de soluções dos padrões comerciais autênticos (Calbiochem, Canadá).

As concentrações de vitamina E foram expressas em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , como componentes isolados e como vitamina E total (soma dos componentes da vitamina E encontrados nas amostras).

#### **4.10. Determinação de minerais e metais pesados**

O preparo das amostras consistiu da secagem em estufa de circulação forçada de ar durante 72 horas a uma temperatura entre 68 e 72°C. Em seguida, as amostras foram pesadas em balança semi-analítica (Gehaka, BG 2000), e moídas em moinhos de facas de aço inox (Start FT – 50), para homogeneização da amostra. Após moagem, as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro para análises posteriores. Foi realizada análise apenas nas ervas desidratadas uma vez que o protocolo utiliza as plantas dessa forma e por querermos assemelhar as ervas comercializadas em chás, estando essas na forma desidratada.

Na análise de minerais, utilizou-se bloco digestor (Tecnal, TE-007D) com termostato Tecnal (040/25); capela de exaustão de gases (SP Labor, FS30) para digestão ácida à quente; e agitador de tubos (Phoenix, AP 56), com velocidade de 3800 rpm, tipo Vortex para homogeneização dos extratos.

##### **4.10.1. Digestão Nítrico-Perclórica**

Esta digestão foi feita para determinação da concentração de P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Mn, Fe, Ni, Cd, Al, Cr e Pb adotando-se o seguinte procedimento:

De acordo com Sarruge & Haag (1974), pesou-se 0,5 g do material moído, transferiu-se para tubos de digestão, onde foram adicionados 10 mL da mistura de ácido nítrico + ácido perclórico na proporção 4:1 dentro de capela de exaustão. O material foi colocado em chapa quente pré-aquecida a 80°C e

aumentou-se a temperatura gradativamente até atingir 200°C. Assim que o extrato ficou cristalino, retirou-se da chapa para esfriar e completou-se o volume para 25 mL com água deionizada.

Retirou-se uma alíquota de 5 mL do extrato nítrico-perclórico e transferiu-se para tubo de ensaio, onde foram adicionados 15 mL de água deionizada, agitando-se para determinar a emissão de luz no espectrômetro de absorção atômica. Utilizou-se curva padrão de calibração para Fe com até 20 mg.L<sup>-1</sup>, para Mn com até 5 mg.L<sup>-1</sup>, Cu até 5 mg.L<sup>-1</sup> e Zn até 2 mg.L<sup>-1</sup>.

#### **4.10.2.** *Determinação de Fósforo*

Pipetou-se uma alíquota de 1 mL do extrato e acrescentaram-se 9 mL de reagente de trabalho (Solução 725). Aguardou-se 20 minutos e fez-se leitura em espectrofotômetro a 725 nm. Usou-se curva padrão de calibração, tendo como concentração máxima 1 mg/L de P.

Para preparo da Solução 725, pesou-se 1 g de subcarbonato de bismuto, acrescentaram-se 138,8 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado e completou-se o volume para 1000 mL.

O preparo do reagente de trabalho foi feito em um balão volumétrico de 1000 mL, onde foram colocados 111 mL da solução 725 e adicionados 0,88 g de ácido ascórbico, sendo o volume completado.

#### **4.10.3.** *Determinação de Potássio*

De acordo com Braga & Defelipo, (1974), retirou-se uma alíquota de 1 mL do extrato e transferiu-se para tubo de ensaio, adicionando-se 24 mL de água deionizada, agitou-se e determinou-se a emissão de luz no fotômetro de chama. Foi utilizada uma curva padrão de calibração com solução de até 10 mg/L de K.

#### **4.10.4.** *Determinação de Cálcio e de Magnésio*

Foi retirada uma alíquota de 1 mL do extrato e transferida para tubo de ensaio, adicionou-se 1,5 mL de solução de SrCl<sub>2</sub> a 16.000 mg/L, completou-se o volume para 15 mL com água deionizada, agitou-se e determinou-se a emissão de luz no espectrômetro de absorção atômica, utilizando-se uma curva padrão de calibração para Ca até 20 mg/L e Mg até 4 mg/L.

#### **4.10.5. Determinação de Enxofre**

Usou-se a metodologia de Alvarez et al. (2001), em que uma alíquota de 5 mL do extrato foi pipetada e acrescentou-se 2,5 mL de solução tampão de trabalho mais 2,5 mL de reagente de trabalho. Aguardou-se 20 minutos para leitura em espectrofotômetro a 725 nm, utilizando-se uma curva padrão de calibração até 1 mg/L.

Para o preparo da solução tampão de trabalho, pesaram-se 80 g de cloreto de magnésio hexahidratado, mais 7,7 g de acetato de amônio e 1,68 g de nitrato de potássio, adicionando-se 700 mL de água deionizada e 56 mL de álcool etílico a 95% e completando-se o volume para 1000 mL. Em outro balão de 1000 mL, adicionaram-se 200 mL desta solução e completou-se novamente o volume para 1000 mL para obter assim a solução tampão de trabalho.

O preparo do reagente de trabalho foi realizado em um balão volumétrico de 1000 mL, onde foram adicionados 26,6 g de cloreto de bário, 140 mL de água deionizada, 0,266 g de goma arábica e completou-se o volume para 1000 mL, agitando bem e usando filtro de papel lento para realizar a filtração.

#### **4.11. Extração e análise de flavonoides**

Foram investigados nas ervas aromáticas as flavonas (luteolina e apigenina) e flavanonas (naringenina e eriodictiol).

Para a extração, pesaram-se 2,5 g da erva desidratada e fresca, sendo adicionados de 10 mL de metanol/HCl a 1% (v:v); após, procedeu-se a agitação em banho metabólico (Marconi, MA231, Brasil) por 2 horas, a 180 rpm. Em seguida, a suspensão foi centrifugada (centrífuga Nuve® NF 1200R Bench-Top Centrifuge) a 2349 g, por 5 minutos, sendo o sobrenadante coletado e seu volume completado para 20 mL com metanol acidificado. Posteriormente, o extrato foi acondicionado em frasco âmbar e armazenado em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) até análise (DYKES et al., 2009), que ocorreu no mesmo dia.

A concentração dos flavonoides foi analisada simultaneamente nas ervas aromáticas por CLAE. O método proposto por Yang et al. (2012) e modificado por Cardoso et al. (2014) foi utilizado para identificar e quantificar os flavonoides no alecrim, manjeriço e hortelã. As análises foram realizadas em um sistema CLAE-DAD (Shimadzu, SCL 10AT VP, Japão), equipado com bomba quaternária para gradiente de alta pressão (Shimadzu, LC-10AT VP, Japão), auto-injetor

com loop de 500  $\mu\text{L}$  (Shimadzu, SIL-10AF, Japão), e sistema de degasamento da fase móvel com gás hélio (Shimadzu, DGU-2 A, Japão).

As condições cromatográficas utilizadas incluíram coluna C-18 Kinetex (150 mm x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) equipada com coluna de guarda C-18 (4 mm x 3 mm) (Phenomenex, Torrance, CA), temperatura da coluna a 35°C, volume de injeção de 15 a 30  $\mu\text{L}$ , varredura do espectro de 200 a 700 nm, com detecção a 360 nm para flavonas e 280 nm para flavanonas. A fase móvel foi composta de 2% de ácido fórmico em água ultrapura (linha A) e 2% de ácido fórmico em acetonitrila (linha B). O gradiente de eluição para B foi o seguinte: 0-3 minutos, 10% isocrático; 3-4 minutos, 10-12%; 4-5 minutos, 12% isocrático; 5-8 minutos, 12-18%; 8-10 minutos, 18% isocrático; 10-12 minutos, 18-19%; 12-14 minutos, 19% isocrático; 14-18 minutos, 19-21%; 18-22 minutos, 21-26%; 22-28 minutos, 26-28%; 28-32 minutos, 28-40%; 32-34 minutos, 40-60%; 34-36 minutos, 60% isocrático; 36-38 minutos, 60-10%; 38-45 minutos, 10% isocrático. A fase móvel foi desgaseificada com gás hélio (50 kPa) durante as corridas, utilizando o seguinte gradiente de fluxo: 0-36 minutos, 1,0 mL/minuto; 36-38 minutos, 1,0-2,0 mL/minuto; 38-44 minutos, 1,0 mL/minuto; 44-45 minutos, 1,0-2,0 mL/minuto.

A identificação dos flavonoides foi realizada pela comparação entre os tempos de retenção de padrões autênticos e dos picos de interesse nas amostras e entre os espectros de absorção dos padrões e picos de interesse nas amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação de cada composto foi realizada por padronização externa, utilizando curvas analíticas construídas pela injeção, em duplicata, de cinco diferentes concentrações de soluções padrão. Os compostos foram expressos em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de amostra, como componentes isolados e como soma de flavonoides.

#### **4.12. Determinação de compostos fenólicos totais**

Para extração dos compostos fenólicos nas ervas utilizou-se 1 g das ervas aromáticas fresca e desidratada, as quais foram adicionadas de 20 mL de solução metanólica a 60%. Em seguida, a suspensão foi agitada a 180 rpm (2 horas) e centrifugada a 2790  $g$  (15 minutos). O sobrenadante foi completado

para 20 mL com a solução metanólica, transferido para um frasco âmbar e armazenado em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) até o momento da análise.

Para extração dos compostos fenólicos nos chás, após a preparação dos mesmos conforme item 4.5, uma amostra de 10 mL foi adicionada de 15 mL de solução metanólica a 60%. Em seguida, a suspensão foi agitada a 180 rpm (2 horas) e centrifugada a 2790 g (15 minutos). Quando necessário, a solução foi avolumada para 20 mL com a solução metanólica, transferida para um frasco âmbar e armazenada em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) para prosseguir a realização da análise.

A concentração de compostos fenólicos totais foi determinada utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999). Para análise, 500  $\mu\text{L}$  do extrato foram adicionados de 500  $\mu\text{L}$  de solução de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemanha) a 20% e 500  $\mu\text{L}$  de solução de carbonato de sódio a 7,5%. Em seguida, a solução foi agitada em vórtex (10 segundos) e incubada por 30 minutos em temperatura ambiente e protegida da luz. Realizou-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro (Evolution 60S, ThermoScientific, EUA) a 765 nm. A quantificação foi realizada utilizando curva analítica construída a partir da leitura da absorvância a 765 nm, de cinco soluções com diferentes concentrações de ácido gálico, em duplicata. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de amostra ( $\text{mg.EqAG.100g}^{-1}$  de amostra).

#### **4.13. Determinação da capacidade antioxidante**

A atividade de retirada de radical (ARR) das amostras foi realizada a partir do extrato preparado para a análise de fenólicos totais utilizando o método do radical DPPH (2,2-difenil-2-picril-hidrazil). Para tanto, uma alíquota de 2,5 mL do extrato foi adicionada de 1,5 mL de solução metanólica de DPPH (Sigma-Aldrich, Alemanha) 0,1 mM. Foi realizada a agitação em vórtex; em seguida, o extrato foi deixado em repouso para reagir por 30 minutos ao abrigo da luz (BLOOR, 2001). A absorvância foi lida em espectrofotômetro (ThermoScientific, ELISA Multiskan GO) a 517 nm.

A capacidade para eliminar o radical DPPH\* foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$\text{ARR}(\%) = 100 \% - [(\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco} \div \text{Abs. controle}) \times 100]$$

Em que:

ARR: Atividade de retirada de radical

Abs.controle: absorvância do controle (solução de DPPH\* sem a amostra);

Abs.amostra: absorvância da amostra-teste (solução de DPPH\* mais a amostra teste);

Abs.branco: absorvância da solução de extração apenas, sem amostra ou solução de DPPH\*.

#### **4.14. Cálculo da retenção real das vitaminas e compostos bioativos**

A retenção real das vitaminas e compostos bioativos foi avaliada nas ervas submetidas aos diferentes tipos de processamentos, por meio do cálculo da porcentagem de retenção real (% RR) utilizando a equação de Murphy (1975):

$$\% \text{ RR} = \frac{\text{CC}^* \text{ na erva processada} \times \text{peso (g) da erva processada}}{\text{CC na erva antes de processar} \times \text{peso (g) da erva antes de processar}} \times 100$$

\*CC = Concentração do composto

#### **4.15. Avaliação do potencial de contribuição das ervas e suas infusões para o atendimento das recomendações de vitaminas e minerais**

O potencial de contribuição nutricional das ervas e infusões de chás foi estimado com base nas *Recommended Dietary Allowance* (RDA), para homens adultos com idade entre 18 a 59 anos (IOM, 2001). As porções de ervas foram calculadas de acordo com as quantidades usualmente consumidas/comercializadas, uma vez que não existe uma recomendação de porção específica para esse tipo de planta. A porção de erva utilizada na forma de condimento se baseou nas quantidades de ervas desidratadas comercializadas em embalagens (5g) e nas utilizadas para o preparo de chás na forma de sachês (2g).

#### **4.16. Delineamento Experimental e análise estatística dos dados**

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, para análise da composição química e compostos bioativos. Os dados foram avaliados quanto à normalidade utilizando o teste de *Shapiro-Wilk*. Para comparação da composição química e concentração de compostos bioativos entre os tratamentos foi utilizado teste t de Student ou Mann Whitney. Utilizou-se o *software* SPSS versão 23.0, adotando-se um nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%.

#### 4.17. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ V., V.H. et al. **Métodos de análises de enxofre em solos e plantas**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2001. 131p.

BLOOR, S. J. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. In: LESTER, P. (Ed.). **Methods in Enzymology: Academic Press**, v. 335, 2001. p.3-14.

BUCHHOLZ, A. C.; SCHOELLER, D. A. Is a calorie a calorie? The American **Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 899-906, May, 2004.

BRAGA, J.M. e DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica do fósforo em extrato de solo e plantas. **Revista Ceres**, v. 21: p. 73-85, 1974.

CAMPOS, F. M. et al. Optimization of methodology to analyze ascorbic and dehydroascorbic acid in vegetables. **Química Nova** [S.l.], v. 32, p. 87-91, 2009.

CARDOSO, L. M et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. **Food chemistry**, v. 152, p. 210-217, 2014.

DYKES, Linda et al. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 313-317, 2009.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Food and Nutrition Board. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc**. Washington, D.C., National Academy Press; 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium**. Washington, D.C., National Academy Press; 2011.

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL, 16<sup>TH</sup> Edition, Volume II, Section 45.4.07, **Method**, 985.29 (1997).

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL, 16<sup>TH</sup> Edition, Volume I, Section 12.1.07, **Method**, 960.52 (2005).

PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8496-8502, 2011.

PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. et al. Evaluation of total carotenoids, alfa and beta-carotene in carrots (*Daucus carota* L.) during home processing. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 39-44, 1998.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. **A guide to carotenoid analysis in foods**. ILSI press. WashingtonD. Washington DC, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. Carotenoid changes in ripening *Momordica charantia*. **Annals of Botany**, v. 40, p. 615-624, 1976.

SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. **Análise química de plantas**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 56p. 1974.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteau reagent. **Methods of Enzymology**, n. 299, v. 152-178, 1999.

YANG, Liji et al. Sorghum phenolics demonstrate estrogenic action and induce apoptosis in nonmalignant colonocytes. **Nutrition and cancer**, v. 64, n. 3, p. 419-427, 2012.

ZIELINSKI, A. A. F. et al. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. **Journal of food science**, v. 79, n. 4, p. C510C516, 2014.

ZHANG, Y. et al. Study on Simultaneous Determination of Potassium, sodium, Phosphorus, Sulfur, Iron, Manganese, Copper, Zinc, Calcium, Magnesium in Tea Infusion by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. **Research Publisher**, v. 2, n. 2, p. 41-47, 2014.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. ARTIGO 1: NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS DE ALECRIM (*Salvia rosmarinus*) FRESCO, DESIDRATADO E SEUS CHÁS PREPARADOS POR INFUSÃO A QUENTE E GELADA

#### RESUMO

Investigou-se a ocorrência e concentração de nutrientes e compostos bioativos em alecrim (*Salvia rosmarinus*) fresco e desidratado e em infusão em água quente e gelada. A análise da composição centesimal e fibras foram feitas de acordo com a AOAC (2012). Vitamina C, vitamina E, carotenoides e flavonoides foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. Minerais e metais pesados foram determinados por ICP-AES. Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foram analisados por espectrofotometria. A erva fresca apresentou elevada umidade (63,18%), baixa concentração de proteína (1,27 mg.100g<sup>-1</sup>) e boa concentração de fibras totais (19,15 g.100g<sup>-1</sup>), sendo destaque a insolúvel (15,86 g.100g<sup>-1</sup>). As concentrações de carotenoides totais, vitamina C, vitamina E total e flavonoides totais no alecrim fresco (em mg.100g<sup>-1</sup>) foram 28,48; 8,09; 12,55 e 422,89, respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) quanto às concentrações de vitamina C, carotenoides, vitamina E, flavonoides, compostos fenólicos e capacidade antioxidante entre a erva fresca e desidratada e entre as infusões. No alecrim desidratado destacaram-se as concentrações de cromo (430,00 µg.100g<sup>-1</sup>), ferro (30,76 mg.100g<sup>-1</sup>), magnésio (270,00 mg.100g<sup>-1</sup>), potássio (236,67 mg.100g<sup>-1</sup>) e cobre (960,00 µg.100g<sup>-1</sup>). Observou-se reduzida concentração de chumbo, alta concentração de alumínio (438,29 67 mg.100g<sup>-1</sup>), não sendo encontrados níquel e cádmio. O alecrim desidratado se mostrou fonte de potássio, cobre e vitamina E, boa fonte de ferro e magnésio e excelente fonte de cromo, além de boa capacidade antioxidante (77,18%). As concentrações de vitamina C e A nas infusões foram reduzidas. Assim, o alecrim fresco e desidratado se mostraram fontes de fibras, micronutrientes e compostos bioativos importantes à saúde e as concentrações de vitaminas nas infusões não foram um diferencial para se atingir as recomendações nutricionais.

**Palavras Chaves:** vitaminas, carotenoides, minerais, flavonoides, capacidade antioxidante, CLAE.

## **ARTICLE 1: BIOACTIVE NUTRIENTS AND COMPOUNDS OF ALECRIM (*Salvia rosmarinus*) FRESH, DEHYDRATED AND THEIR TEA PREPARED BY HOT AND FROZEN INFUSION**

### **ABSTRACT**

The occurrence and concentration of nutrients and bioactive compounds in fresh and dehydrated rosemary (*Salvia rosmarinus*) and its infusion in hot and icy water was investigated. The analysis of the centesimal composition and fibers were made according to AOAC (2012). Vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids were analyzed by high performance liquid chromatography. Minerals and heavy metals were determined by ICP-AES. Total phenolic compounds and antioxidant capacity were analyzed by spectrophotometry. The fresh herb presented high humidity (63.18%), low protein concentration (1.27 mg.100g<sup>-1</sup>) and good concentration of total fibers (19.15 g.100g<sup>-1</sup>), being highlighted the insoluble fiber (15.86 g, 100 g<sup>-1</sup>). The concentrations of total carotenoids, vitamin C, total vitamin E and total flavonoids in fresh rosemary (in mg.100g<sup>-1</sup>) were 28.48; 8.09; 12.55 and 422.89, respectively. There were no significant differences ( $p > 0.05$ ) in the concentrations of vitamin C, carotenoids, vitamin E, flavonoids, phenolic compounds and antioxidant capacity between fresh and dehydrated herb and between infusions. In the dehydrated rosemary, the concentrations of chromium (430.00  $\mu$ g.100g<sup>-1</sup>), iron (30.76 mg.100g<sup>-1</sup>), magnesium (270.00 mg.100g<sup>-1</sup>), potassium (236.67 mg.100g<sup>-1</sup>) and copper (960.00  $\mu$ g.100g<sup>-1</sup>) highlighted. A low concentration of lead, high aluminum concentration (438.29 67 mg.100g<sup>-1</sup>) was observed, with no nickel and cadmium being found. Dehydrated rosemary was a source of potassium, copper and vitamin E, a good source of iron and magnesium and an excellent source of chromium, as well as good antioxidant capacity (77.18%). The concentrations of vitamin C and A in the infusions were reduced. Thus, fresh and dehydrated rosemary proved to be important sources of fiber, micronutrients and bioactive compounds to health and the concentrations of vitamins in the infusions were not a differential to reach the nutritional recommendations.

**Keywords:** vitamins, carotenoids, minerals, flavonoids, antioxidant capacity, HPLC.

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, têm-se investigado os efeitos de nutrientes e compostos bioativos de ervas e alimentos em diversas enfermidades. Tais pesquisas têm tentado explicar os benefícios desses compostos com ação anti-inflamatória, antioxidante, antialérgica e antiobesidade (HU et al., 2009; RODRIGUES, 2015).

Dentre essas plantas, cita-se a *Salvia rosmarinus*, conhecida como *Rosmarinus officinalis*, tendo sua nomenclatura modificada recentemente (DREW, et al., 2017). De nome popular alecrim, é uma das espécies de ervas aromáticas da família *Lamiaceae*, que foi primeiramente cultivada no Mediterrâneo e então transplantada para a China e, atualmente, é cultivada em âmbito mundial (FLAMINI et al., 2002). Trata-se de uma planta aromática com aplicações medicinais, farmacêuticas e cosméticas (CARVALHO-JUNIOR et al., 2004). Existem diferentes espécies de alecrim em todo o mundo: *R. officinalis*, *R. eriocalyx*, *R. laxiflorus*, e *R. lavandulaceus* (ANGIONI et al., 2004).

A ação antioxidante do alecrim e seus compostos bioativos vêm sendo identificados (NASSU et al., 2003). As propriedades de suas folhas são atribuídas, principalmente, à grande concentração de fenólicos diterpênicos, sendo relatados alguns com ação antioxidante, como ácido carnósico, rosmaridifenol, rosmariquinona e rosmarínico (HRAS, et. al., 2000; SAENZ-LOPEZ et al., 2002; THORSEN et al., 2003). Esta ação antioxidante também está relacionada à presença de flavonoides que absorvem radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) visível e, dessa maneira, apresentam um papel de defesa das plantas frente à radiação UV da luz solar, sendo os flavonóis e antocianinas os mais importantes (IBÁÑEZ et al., 2000; MATTEA et al., 2004; MOON e WANG, 2006).

Porém, tais compostos são sensíveis ao aquecimento, resultando na redução da ação antioxidante na maioria dos condimentos, devido à reação de interação com outras substâncias (GENENA, 2005).

Os estudos sobre o alecrim têm sido direcionados à sua capacidade antioxidante e benefícios dos compostos fenólicos à saúde (TAKAYAMA, et al., 2016; OLAN et al., 2016; WANG, et al., 2018). Os estudos sobre os nutrientes e outros compostos bioativos nessa erva são escassos (GENENA, 2005).

Atualmente, a maioria dos esforços na pesquisa com o alecrim tem sido focados em extratos de alecrim com azeite, álcool e água. Foram encontrados até o momento, um estudo sobre a composição da infusão de folhas de *Salvia officinalis*, investigando os efeitos neurobiológicos de chá em camundongos por Ferlemi et al. (2015) e outro por Achour et al. (2017), caracterizando flavonoides e compostos fenólicos no chá de alecrim, na Tunísia, no norte da África.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência e concentração de nutrientes e compostos bioativos no alecrim fresco, desidratado e preparado sob infusão a quente e em água gelada. Assim, pretende-se contribuir para o avanço nas pesquisas sobre nutrientes e compostos bioativos em ervas e chás, fornecendo informações que possam subsidiar o efeito benéfico do consumo destas na saúde humana.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Coleta e preparação das amostras**

Foram coletados aleatoriamente, em vários pontos dos ramos e canteiros, de 200 g a 400 g de alecrim (Figura 1) em uma feira livre e na zona rural, com dois agricultores do município de Viçosa, Minas Gerais, entre os meses de janeiro a maio de 2017. As amostras foram identificadas, embaladas em sacos plásticos, envolvidas em papel alumínio, colocadas em caixa de isopor e transportadas para o Laboratório de Análises de Vitaminas (LAV) do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (DNS-UFV).

Foram selecionadas as folhas, lavadas em água corrente e secas com auxílio de papel toalha. Em seguida foram protegidas da luz e armazenadas em geladeira (Brastemp  $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), até o momento das análises de umidade, carotenoides, vitaminas e flavonoides, que ocorreram entre 1 e 2 dias. Para análise de macronutrientes, fibras e minerais, as ervas foram desidratadas, protegidas da luz e armazenadas em freezer (Brastemp  $-18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) até o momento da análise nos laboratórios de Análise de Alimentos e Nutrição Experimental (DNS) e Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizantes (Departamento de Solos - UFV-MG), respectivamente.

A erva a ser utilizada desidratada, imediatamente após chegar ao LAV e ser higienizada, conforme procedimento acima, passou por processo de secagem em estufa (Quimis, Q320 M model, Brazil) a 80°C por 3 horas e foi armazenada em freezer até o momento das análises.



**Figura 1:** Representação fotográfica do alecrim (*Salvia rosmarinus*).

Fonte: Google imagens

## **2.2. Preparação dos chás**

A extração a quente foi realizada de acordo com a metodologia de Zielinski et al. (2014). Dois gramas de amostra desidratada, foi colocada em 100 mL de água destilada a 80°C, deixando sob agitação magnética durante 7,5 minutos.

A extração em água gelada foi realizada com 2,0 g de amostra desidratada em 100 mL de água destilada, em temperatura de 7 a 10°C, em imersão por cerca de 15 minutos, sob agitação magnética (ZIELINSKI et al., 2014).

Todos os extratos foram filtrados em papel filtro quantitativo 125 milímetros (Unifil) e deixados no freezer a -18°C ± 1°C até análise. A partir deste material, foi retirada uma alíquota para análise.

## **2.3. Determinação da Composição Centesimal**

Umidade, cinzas, proteínas e lipídios foram determinados, em triplicata, de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists - AOAC* (2012). Fibra alimentar (total, solúvel e insolúvel) foi analisada em duplicata segundo a *AOAC* (2012).

A umidade foi determinada usando estufa com circulação forçada de ar (Nova Ética, modelo 400 / 6ND, São Paulo, Brasil) a 105°C e as cinzas foram

quantificadas usando um forno de muffle (Quimis, modelo Q320 M, Brasil) a 550°C. Os carboidratos foram calculados por diferença, por meio da seguinte equação: [100 - (% de umidade +% de lipídios +% de proteínas +% fibra dietética total +% de cinzas)]. O valor energético total do alecrim foi estimado considerando os fatores de conversão de 4 kcal/g para proteínas ou carboidratos e 9 kcal/g para lipídios.

#### **2.4. Extração e análise de carotenoides**

Os carotenoides (luteína e  $\beta$ -caroteno) foram extraídos segundo o método de Rodriguez-Amaya (2001), com adaptações.

Para extração dos carotenoides do alecrim, foram pesados 2,5 g de amostra desidratada e 5 g da amostra fresca, os quais foram homogeneizados em 15 mL de acetona resfriada, com o auxílio de um microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) por 5 minutos. A suspensão obtida foi filtrada a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. Em seguida, o procedimento de extração foi repetido por mais duas vezes adicionando-se 15 mL de acetona resfriada ao resíduo, com posterior homogeneização e filtração a vácuo.

Em seguida, foi realizada a partição dos carotenoides da acetona para o éter de petróleo. O filtrado foi transferido, em três frações, para um funil de separação contendo 50 mL de éter de petróleo resfriado. Após a transferência de cada fração, adicionaram-se aproximadamente 100 mL de água destilada, sendo repetido o processo por três vezes, para a separação de fases (carotenoides-éter de petróleo e acetona-água), sendo a fase inferior (acetona-água) descartada. Acrescentou-se sulfato de sódio anidro ao extrato etéreo para remoção de qualquer resíduo de água. Posteriormente, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Tecnal TE-211) a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , transferido para um balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume completado com éter de petróleo e armazenados em frasco âmbar no freezer. Pipetaram-se 5 mL da amostra em béquer âmbar e este volume foi evaporado em nitrogênio, retomando-se em 2 mL de acetona grau HPLC e, em seguida, filtrado em unidades filtrantes (0,45  $\mu\text{m}$ , Millipore, Brasil), sendo injetados 30  $\mu\text{L}$  na coluna cromatográfica.

Para extração dos carotenoides dos chás, dois gramas de amostras desidratadas foram pesados e destinados ao preparo dos chás, conforme item

2.3. A infusão foi filtrada em papel de filtro, sendo 20 mL homogêneos em 20 mL de acetona resfriada (re-extração), com o auxílio de um microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) por 5 minutos. O volume final foi filtrado e procedeu-se as mesmas etapas da erva conforme adaptado de Rodriguez-Amaya, 2001.

As análises de carotenoides ocorreram conforme o proposto por Pinheiro-Sant'Ana et al. (1998). Utilizou-se sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD), (Shimadzu, SPD-M10A, Japão); coluna cromatográfica Phenomenex Gemini (250 x 4 mm i.d., 5 µm), munida de coluna de guarda Phenomenex ODS (C18) (4mm x 3mm), fase móvel composta por metanol: acetato de etila: acetonitrila (80:10:10); eluição isocrática; fluxo da fase móvel de 2,0 mL/min. O tempo de corrida foi de 12 min e os cromatogramas foram obtidos em comprimento de onda de 450 nm.

A identificação dos carotenoides foi realizada pela comparação dos tempos de retenção de padrões autênticos (Aldrich®, Alemanha) e dos picos de interesse nas amostras e pelos espectros de absorção dos padrões e dos picos de interesse das amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando curvas analíticas construídas a partir da injeção, de seis diferentes concentrações de soluções padrão (equação: β-caroteno  $y = 7.226.117,93x + 6.568,38$ ,  $R^2 = 1,00$  e luteína  $y = 3.549.000,7x + 294.805,76$ ,  $R^2 = 1,00$ ). Os carotenoides foram expressos em mg.100g<sup>-1</sup> de amostra, como componentes isolados e como soma de carotenoides.

A concentração de vitamina A foi calculada segundo as recomendações do *U. S. Institute of Medicine* (2011) em que 1 Equivalente de Atividade de Retinol (RAE) corresponde a 1 µg de retinol; 12 µg de β-caroteno; 24 µg de outros carotenoides pró-vitâmicos.

## **2.5. Extração e análise de vitamina C**

As condições utilizadas para extração e análise de vitamina C, na forma de ácido ascórbico (AA), foram as otimizadas por Campos et al. (2009).

Para extração de vitamina C na erva foram pesados 2,5 g de erva desidratada e 5 g de erva fresca, aos quais foram adicionados 15 mL de solução

extratora (ácido metafosfórico 3%, ácido acético 8%, ácido sulfúrico 0,3 N e EDTA 1 mM). A mistura foi homogeneizada em microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) durante 5 minutos. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas (Nuve® NF 1200R Bench-Top Centrifuge) a 2349 g por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e filtrado a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro. Em seguida este filtrado foi transferido para um balão volumétrico, sendo o volume completado para 25 mL com água ultrapura.

Para extração de vitamina C dos chás, a infusão foi preparada de acordo com o item 2.3. Em seguida, foi filtrada em papel de filtro, sendo 20 mL desta adicionados de 15 mL da solução extratora, procedendo-se as mesmas etapas da extração proposta por Campos et. al. (2009).

Para análise do AA, as condições cromatográficas utilizadas foram: sistema CLAE-DAD (Shimadzu, SPD-M10A, Japão); coluna cromatográfica RP-18 Synergy Hidro 100, 250 x 4,6 mm, 5 µm, munida de coluna de guarda (C 18, 4 mm x 3 mm); fase móvel composta por 1 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM EDTA, pH ajustado a 3,00 com ácido fosfórico e fluxo de 1,0 mL/minuto. O tempo de corrida foi de aproximadamente 7 minutos e o volume de injeção de 100 a 300 µL. Os cromatogramas foram obtidos em comprimento de onda de 245 nm.

A identificação do AA foi realizada pela comparação entre os tempos de retenção de padrão autêntico (Proquímios, Brasil) e do pico de interesse nas amostras e pelos espectros de absorção dos padrões e picos de interesse das amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando curva analítica construída pela injeção, em duplicata, de uma solução padrão de concentração conhecida, com cinco injeções, com variação no volume (equação:  $y = 2.055.977,81x - 69.549,76$   $R^2 = 1,00$ ). A concentração de vitamina C foi expressa em mg.100g<sup>-1</sup>.

## **2.6. Extração e análise de vitamina E**

A extração e análise dos componentes da vitamina E (α, β, γ e δ-tocoferóis e tocotrienóis) foram realizadas apenas na erva fresca e desidratada. Não foi realizada análise de vitamina E nos chás, uma vez que o protocolo utilizado no Laboratório de Análises de Vitaminas – DNS- UFV não é validado para análises

em meio aquoso. Além da vitamina em questão ser lipossolúvel e os reagentes utilizados nos métodos não serem capazes de extrair a vitamina em água.

O método baseou-se em Pinheiro-Sant'Ana et al. (2011), com algumas modificações. Dez gramas de amostra fresca e 5 g da amostra desidratada foram adicionados de 4 mL de água ultrapura aquecida ( $80 \pm 1^\circ\text{C}$ ), 10 mL de isopropanol, 1 mL de hexano contendo 0,05% de BHT, 5 g de sulfato de sódio anidro e 25 mL da mistura solvente de extração (hexano: acetato de etila, 85:15, v/v). Posteriormente, a suspensão foi homogeneizada utilizando-se microtritador (IKA T 18<sup>®</sup> Ultra Turbax), durante 1 minuto. Em seguida, a suspensão foi filtrada a vácuo em funil de Büchner utilizando-se papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. A etapa de extração foi repetida, adicionando-se ao resíduo 5 mL de isopropanol e 30 mL da mistura solvente de extração, com posterior homogeneização por 1 minuto. Após, rinsou-se a haste do triturador com 10 mL da solução extratora e realizou-se a filtração a vácuo. Em seguida, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Quimis, modelo 344.1), a  $70 \pm 1^\circ\text{C}$  (2 minutos), transferido para balão volumétrico e o volume completado para 25 mL com mistura solvente de extração.

Após a extração, alíquotas de 5 mL do extrato foram secas em nitrogênio gasoso, redissolvidas em 2 mL de hexano grau HPLC e filtradas utilizando-se unidades filtrantes de porosidade 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore, Brasil).

As análises de vitamina E na erva foram realizadas injetando-se 1 e 10  $\mu\text{L}$  dos extratos. As condições cromatográficas utilizadas incluíram: sistema CLAE (Shimadzu, SCL 10AD VP) com detector de fluorescência (290 nm de excitação e 330 nm de emissão); coluna cromatográfica Phenomenex Luna Si100 (250 x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) acoplada de coluna de guarda Phenomenex Si100 (4 x 3 mm); fase móvel – hexano: isopropanol: ácido acético glacial (98,9: 0,6: 0,5, v/v/v); fluxo da fase móvel de 1,0 mL/min e tempo de corrida de 21 minutos.

A identificação dos componentes da vitamina E foi realizada comparando-se o tempo de retenção dos padrões autênticos (Calbiochem, EMD Biosciences Inc. EUA), e dos componentes de interesse nas amostras, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa por meio da comparação das áreas dos picos com aquelas obtidas nas curvas analíticas construídas a partir da injeção, em duplicata, de seis diferentes concentrações de soluções dos padrões comerciais autênticos

(Calbiochem, Canadá). As concentrações de vitamina E foram expressas em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , como componentes isolados e como vitamina E total (soma dos componentes da vitamina E encontrados nas amostras) (IOM, 2000).

### **2.7. Determinação de minerais e metais pesados**

Foi realizada análise apenas na erva desidratada uma vez que o protocolo utiliza a planta dessa forma e por querermos assemelhar a erva comercializada em sachês para chá, estando essa na forma desidratada.

Para análise e determinação de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Ni, Cd, Al e Pb utilizou-se a digestão nitroperclórica (Sarruge & Haag, 1974), e as análises foram feitas por espectrofotometria de absorção atômica em plasma indutivamente acoplado (ICP-EAS) (Perkin Elmer, Optima 3300 DV). A determinação de P foi feita por colorimetria pelo método do ácido ascórbico (Braga & Defelipo, 1974); a determinação de K foi realizada por fotometria de chama; a determinação de S foi realizada por turbidimetria de acordo com método de Alvarez et al. (2001).

### **2.8. Extração e análise de flavonoides**

Foram investigadas no alecrim as flavonas (luteolina e apigenina) e flavanonas (naringenina e eriodictiol).

Para a extração, pesaram-se 2,5 g da erva desidratada e fresca, sendo adicionados de 10 mL de metanol/HCl a 1% (v:v); após, procedeu-se a agitação em banho metabólico (Marconi, MA231, Brasil) por 2 horas, a 180 rpm. Em seguida, a suspensão foi centrifugada (centrífuga Nuve® NF 1200R Bench -Top Centrifuge) a 2349 g, por 5 minutos, sendo o sobrenadante coletado e seu volume completado para 20 mL com metanol acidificado. Posteriormente, o extrato foi acondicionado em frasco âmbar e armazenado em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) até análise (DYKES et al., 2009), que ocorreu no mesmo dia.

A concentração dos flavonoides foi analisada simultaneamente na erva aromática por CLAE. O método proposto por Yang et al. (2012) e modificado por Cardoso et al. (2014) foi utilizado para identificar e quantificar os flavonoides no alecrim. As análises foram realizadas em um sistema CLAE equipado com DAD (Shimadzu, SPD-M10A, Japão), bomba quaternária para gradiente de alta pressão (Shimadzu, LC-10AT VP, Japão), auto-injetor com loop de 500  $\mu\text{L}$

(Shimadzu, SIL-10AF, Japão), e sistema de degasamento da fase móvel com gás hélio (Shimadzu, DGU-2 A, Japão).

As condições cromatográficas utilizadas incluíram coluna C-18 Kinetex (150 mm x 4,6 mm, 5  $\mu$ m) equipada com coluna de guarda C-18 (4 mm x 3 mm) (Phenomenex, Torrance, CA), temperatura da coluna a 35 °C, volume de injeção de 15 a 30  $\mu$ L, varredura do espectro de 200 a 700 nm, com detecção a 360 nm para flavonas e 280 nm para flavanonas. A fase móvel foi composta de 2% de ácido fórmico em água ultrapura (linha A) e 2% de ácido fórmico em acetonitrila (linha B). O gradiente de eluição para B foi o seguinte: 0-3 minutos, 10% isocrático; 3-4 minutos, 10-12%; 4-5 minutos, 12% isocrático; 5-8 minutos, 12-18%; 8-10 minutos, 18% isocrático; 10-12 minutos, 18-19%; 12-14 minutos, 19% isocrático; 14-18 minutos, 19-21%; 18-22 minutos, 21-26%; 22-28 minutos, 26-28%; 28-32 minutos, 28-40%; 32-34 minutos, 40-60%; 34-36 minutos, 60% isocrático; 36-38 minutos, 60-10%; 38-45 minutos, 10% isocrático. A fase móvel foi desgaseificada com gás hélio (50 kPa) durante as corridas, utilizando o seguinte gradiente de fluxo: 0-36 minutos, 1,0 mL/minuto; 36-38 minutos, 1,0-2,0 mL/minuto; 38-44 minutos, 1,0 mL/minuto; 44-45 minutos, 1,0-2,0 mL/minuto.

A identificação dos flavonoides foi realizada pela comparação entre os tempos de retenção de padrões autênticos e dos picos de interesse nas amostras e entre os espectros de absorção dos padrões e picos de interesse nas amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação de cada composto foi realizada por padronização externa, utilizando curvas analíticas construídas pela injeção, em duplicata, de cinco diferentes concentrações de soluções padrão, os compostos foram expressos em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de amostra, como componentes isolados e como soma de flavonoides. Os compostos serão expressos em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de amostra.

## **2.9. Determinação de compostos fenólicos totais**

Para extração dos compostos fenólicos utilizou-se 1 grama da erva fresca e desidratada, as quais foram adicionadas de 20 mL de solução metanólica a 60%. Em seguida, a suspensão foi agitada a 180 rpm (2 horas) e centrifugada a 2790 *g* (15 minutos). O sobrenadante foi completado para 20 mL com a solução

metanólica, transferido para um frasco âmbar e armazenado em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) até o momento da análise.

Para extração dos compostos fenólicos nos chás, após a preparação dos mesmos conforme item 2.3, uma amostra de 10 mL foi adicionada de 15 mL de solução metanólica a 60%. Em seguida, a suspensão foi agitada a 180 rpm (2 horas) e centrifugada a 2790 g (15 minutos). Quando necessário, a solução foi avolumada para 20 mL com a solução metanólica, transferida para um frasco âmbar e armazenada em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) para prosseguir a realização da análise.

O total de compostos fenólicos foi determinado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999). Para análise, 500  $\mu\text{L}$  do extrato foram adicionados de 500  $\mu\text{L}$  de solução de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemanha) a 20% e 500  $\mu\text{L}$  de solução de carbonato de sódio a 7,5%. Em seguida, a solução foi agitada em vórtex (10 segundos) e incubada por 30 minutos em temperatura ambiente e protegida da luz. Realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Evolution 60S, ThermoScientific, EUA) a 765 nm. A quantificação foi realizada utilizando curva analítica construída a partir da leitura da absorbância a 765 nm, de cinco soluções com diferentes concentrações de ácido gálico, em duplicata. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra ( $\text{mg.EqAG.100g}^{-1}$  de amostra).

#### **2.10. Determinação da capacidade antioxidante**

A atividade de retirada de radical (ARR) das amostras foi realizada a partir do extrato preparado para a análise de fenólicos totais utilizando o método do radical DPPH (2,2-difenil-2-picril-hidrazil) (BLOOR, 2001). Para tanto, uma alíquota de 2,5 mL do extrato foi adicionada de 1,5 mL de solução metanólica de DPPH (Sigma-Aldrich, Alemanha) 0,1 mM (1,0 mL). Foi realizada a agitação em vórtex; em seguida, o extrato foi deixado em repouso para reagir por 30 minutos ao abrigo da luz. A absorvância foi lida em espectrofotômetro (ThermoScientific, ELISA Multiskan GO) a 517 nm.

A capacidade para eliminar o radical DPPH\* foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$\text{ARR}(\%) = 100 \% - [(\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco} \div \text{Abs. controle}) \times 100]$$

Em que:

ARR: Atividade de retirada de radical

Abs. controle: absorvância do controle (solução de DPPH\* sem a amostra);

Abs. amostra: absorvância da amostra-teste (solução de DPPH\* mais a amostra teste);

Abs. branco: absorvância da solução de extração apenas, sem amostra ou solução de DPPH\*.

### **2.11. Delineamento experimental e análise estatística dos dados**

As concentrações de nutrientes e de compostos bioativos do alecrim na forma fresca e desidratada e submetido à infusão em água quente e em água gelada foram avaliadas utilizando o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 3 repetições.

Os dados foram avaliados quanto à normalidade utilizando o teste de *Shapiro-Wilk*. Em seguida, os dados analisados por teste t de Student ou Mann Whitney. Utilizou-se o *software* SPSS versão 23.0, adotando-se um nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%.

### **2.12. Avaliação do potencial de contribuição do alecrim e suas infusões para o atendimento das recomendações de vitaminas e minerais**

O potencial de contribuição nutricional das ervas e chás foi estimado com base nas *Recommended Dietary Allowance* (RDA), para adultos com idade entre 18 a 59 anos (IOM, 2001). As porções de ervas foram calculadas de acordo com quantidades usualmente consumidas/comercializadas. A contribuição nutricional se baseou em embalagens de ervas desidratadas comercializadas em mercado (5g) e o indicado para preparo de chás na forma de sachês (2g), uma vez que não existe na literatura recomendação de porções para ervas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Composição centesimal do alecrim

O alecrim fresco apresentou 63,18% de umidade, indo de encontro ao estudo de Almeida et al. (2003), que observaram altos valores de umidade em diversas ervas, na faixa de 62–78%, dentre eles uma espécie de alecrim-pimenta. Leal et al. (2003) também encontraram altos valores de umidade (69,6%) em capim cidreira.

Em nosso estudo, a concentração média de cinzas foi de 9,65 g.100g<sup>-1</sup>, próximo ao mostrado por Bertol et al. (2015), em que a concentração de cinzas em barbatimão, carqueja e quebra-pedra variou de 1,64g a 8,44 g.100g<sup>-1</sup>. Almeida et. al. (2010) relataram concentração mais elevada de cinzas (5,93 a 8,46 g.100g<sup>-1</sup>) em alecrim coletado em Ubá e Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

No presente estudo encontrou-se em média 1,27 g.100g<sup>-1</sup> de proteína no alecrim desidratado, concentração menor que a relatada por Pedro et. al. (2016) em outras ervas (barbatimão: 5,44 g.100g<sup>-1</sup>; carqueja 8,62 g.100g<sup>-1</sup>; quebra-pedra: 9,35 g.100g<sup>-1</sup> e mangava brava: 2,36 g.100g<sup>-1</sup>).

O alecrim desidratado apresentou média de 4,99 g.100g<sup>-1</sup> de lipídios, quantidade maior que a observada em carqueja (2,49 g.100g<sup>-1</sup>) por Simão (2013) e por Pedro et. al. (2016) em barbatimão (1,01 g.100g<sup>-1</sup>), carqueja (1,69 g.100g<sup>-1</sup>), quebra-pedra (2,05 g.100g<sup>-1</sup>) e mangava brava (0,48 g.100g<sup>-1</sup>).

A concentração de carboidratos foi maior que a dos demais macronutrientes (28,31±g.100g<sup>-1</sup>), entretanto em outras plantas medicinais, Pedro et. al. (2016) observaram 72 g.100g<sup>-1</sup> de carboidratos no quebra pedra e 81,9 g.100g<sup>-1</sup> na mangava.

O alecrim do nosso estudo apresentou um valor energético de 8,16 Kcal na porção de 5 g de erva. A tabela de composição de alimentos (TACO, 2011) não traz a composição centesimal do alecrim, mas mostra que o manjerição e a salsa possuem 1 kcal/5g e 4kcal/5g, respectivamente. Dessa forma, a erva é calórica ao se considerar a densidade calórica (DC = 1,6) da mesma, porém a quantidade ingerida é pequena e sua ingestão não se mostra significativa para o consumo energético diário.

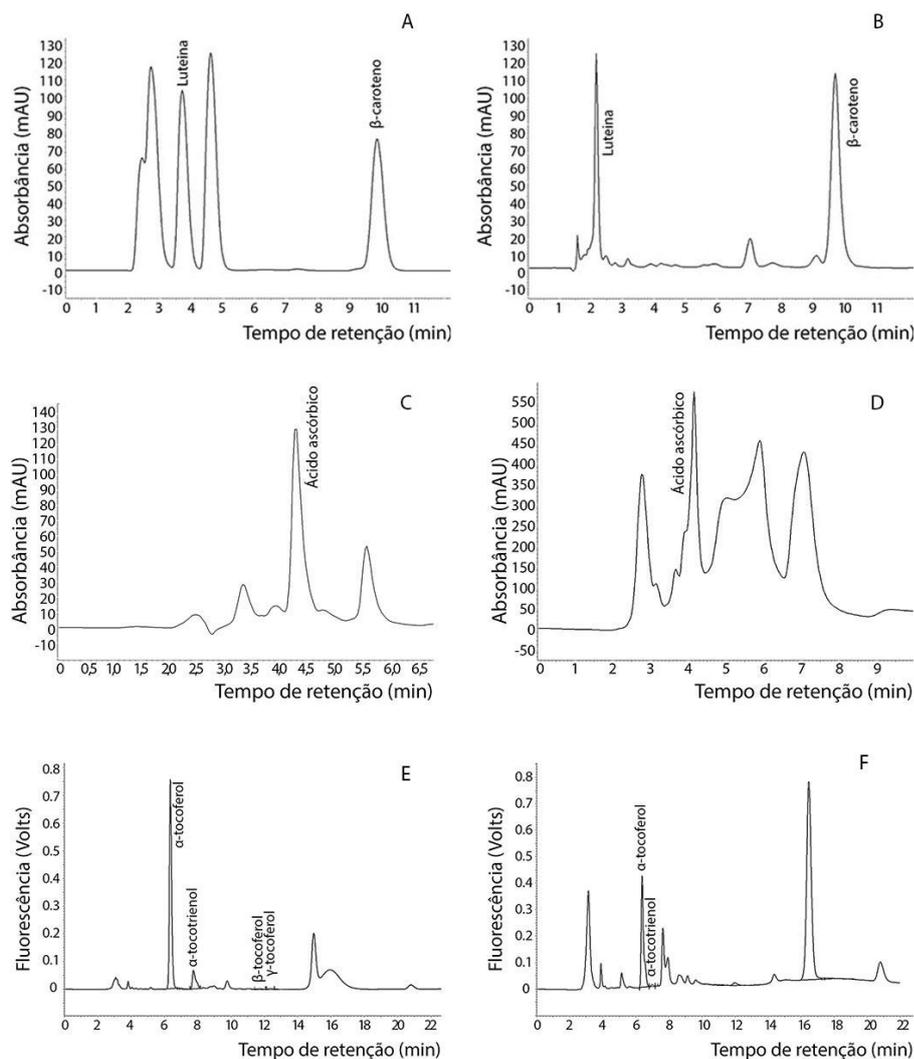
Em nosso estudo o alecrim desidratado apresentou alta concentração de fibras totais (19,15 g.100g<sup>-1</sup>), 3,30 g.100g<sup>-1</sup> de solúvel e tendo destaque a fibra

insolúvel ( $15,86 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). Considerando uma porção de 5g/dia, quantidade usualmente comercializada em pacotes e utilizada como tempero em preparações alimentares, o alecrim desidratado pode contribuir com 3,16% da recomendação de fibras.

Os diferentes valores da composição centesimal encontrados nos estudos podem estar relacionados a origem, variedades das ervas analisadas e as diferentes estruturas vegetais das plantas (BERTOL et al., 2015). A escassez de estudos com alecrim impossibilitou uma melhor comparação.

### **3.2. Carotenoides, vitamina C e vitamina E no alecrim**

A análise qualitativa indicou a presença dos seguintes componentes no alecrim fresco:  $\beta$ -caroteno (tempo de retenção - RT = 10min); luteína (RT = aproximadamente 4 min); ácido ascórbico (RT = 4,5 min);  $\alpha$ -tocoferol (RT = 6 min),  $\alpha$ -tocotrienol (RT = 8 min),  $\beta$ -tocoferol (RT = 11,5 min) e  $\gamma$ -tocoferol (RT = 12 min). Na erva desidratada observou-se a presença de  $\beta$ -caroteno (RT = aproximadamente 10 min); luteína (RT = 2 min); ácido ascórbico (RT = 4 min);  $\alpha$ -tocoferol (RT = 6,5 min),  $\alpha$ -tocotrienol (RT = 7 min). A separação dos componentes foi adequada, o que garantiu uma quantificação confiável (Figura 2).



**Figura 2:** Análise por CLAE de carotenoides em alecrim fresco (A) e desidratado (B); ácido ascórbico em alecrim fresco (C) e desidratado (D); vitamina E em alecrim fresco (E) e desidratado (F).

O  $\beta$ -caroteno foi encontrado em menor concentração que a luteína no alecrim fresco e desidratado, porém não foi observada diferença estatística entre esses tratamentos (Tabela 1).

No entanto, no alecrim desidratado a retenção de  $\beta$ -caroteno foi de apenas 55% e a de luteína de 45,38%. A degradação de carotenoides pode aumentar ou reduzir em virtude do tempo, temperatura, tamanho e a desintegração das partículas do alimento (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997; PINHEIRO – SANT’ANA, 1998). Assim, investigar a retenção de carotenoides após o processamento é essencial.

**Tabela 1:** Concentração de carotenoides, vitamina C e vitamina E no alecrim fresco e desidratado

<b>Compostos</b>	<b>Erva fresca</b>	<b>Erva desidratada</b>	<b>Retenção Real* (%)</b>
<i>Carotenoides (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
β-Caroteno	4,54±5,25 <sup>a</sup>	6,51±2,52 <sup>a</sup>	55,2
Luteína	23,94±26,89 <sup>a</sup>	28,22±8,19 <sup>a</sup>	45,38
<i>Soma de Carotenoides</i>	16,03±32,10	28,96±15,89	
<i>Valor de vitamina A (RAE.100g<sup>-1</sup>)</i>	378,33	542,50	
<i>Vitamina C (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	8,09±7,47 <sup>a</sup>	5,86±3,90 <sup>a</sup>	27,88
<i>Vitamina E (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
α-Tocoferol	11,24±9,74 <sup>a</sup>	9,35±2,88 <sup>a</sup>	32,02
α-Tocotrienol	1,31±0,70 <sup>a</sup>	0,98±0,36 <sup>a</sup>	27,65
β-Tocoferol	0,01±0,015 <sup>a</sup>	nd	0
β-Tocotrienol	nd	nd	-
γ-Tocoferol	0,004±0,005 <sup>a</sup>	nd	0
γ-Tocotrienol	nd	nd	-
<i>Vitamina E Total (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	9,37±6,63	8,00±6,53	

Dados expressos em base fresca como média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para cada componente, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo Teste t. nd: não detectado.

\*Retenção Real (%RR): Calculado de acordo com a fórmula de Murphy, Criner e Gray (1975)

% RR =  $\frac{\text{Concentração do composto na erva processada} \times \text{peso (g) da erva processada}}{\text{Concentração do composto na erva antes do processamento} \times \text{peso (g) da erva antes do processamento}} \times 100$

Pereira e Angelis – Pereira (2013) encontraram em sálvia e salsa frescas 2,78 e 4,56 mg.100g<sup>-1</sup> de β-caroteno e 6,35 e 8,3 mg.100g<sup>-1</sup> de luteína. A concentração de β-caroteno foi similar em nosso estudo, já a concentração de luteína foi menor que a do alecrim. Entretanto não foram encontrados estudos com o alecrim, dificultando a comparação dos resultados.

As concentrações de vitamina C e vitamina E não diferiram entre o alecrim fresco e desidratado (p>0,05), porém observou-se que ao ser desidratado a retenção foi baixa (27,88 e 31,69%), indicando perda expressivas das vitaminas (Tabela 1). Sabe-se que a vitamina C é extremamente instável e pode ser reduzida na presença de ar, calor, água ou luz. De modo geral, a estabilidade da vitamina C aumenta com a redução da temperatura e a maior perda se dá

durante o aquecimento dos alimentos (FREITAS et al., 2016). Da mesma forma, as perdas expressivas dos componentes de vitamina E podem ser explicadas devido às alterações decorrentes do aquecimento (CORREIA, FARAONI e PINHEIRO-SANT'ANA, 2008).

Não foram encontrados estudos que quantificaram essas vitaminas no alecrim, o que impossibilitou a comparação com nossos resultados. Juntamente com vitamina C e  $\beta$ -caroteno, a vitamina E compõe um grupo de nutrientes com capacidade antioxidante, agindo contra o ataque de radicais livres, auxiliando na prevenção de doenças coronarianas, menor oxidação da LDL, aumentando função imunológica, faz parte da composição da membrana das mitocôndrias e síntese de hormônios (GUINAZI, 2004).

Em relação a vitamina E foi identificado e quantificado  $\alpha$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocotrienol,  $\beta$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocoferol na erva fresca e desidratada, sendo o componente predominante o  $\alpha$ -tocoferol. Guinazi (2004) destaca a importância do  $\alpha$ -tocoferol, por ser o componente de maior atividade biológica, apontando que entre os vegetais, os folhosos são boas fontes de vitamina E, tendo predominância do  $\alpha$ -tocoferol, sendo sua concentração mais alta em vegetais verdes-escuros, indo de encontro ao nosso achado.

Alguns estudos apontam o espinafre como uma boa fonte de vitamina E, com valores de  $\alpha$ -tocoferol variando de 1,22 a 51,8 mg.100g<sup>-1</sup> (PIIRONEN et. al., 1986; AZZI e STOCKER, 2000). O alecrim fresco e desidratado apresentaram concentração de  $\alpha$ -tocoferol maior que a do espinafre, sendo que na porção usualmente comercializada como condimento para saladas, carnes e temperos (5g = 2 colheres de sopa – Figura 4) tem-se 0,46 mg de  $\alpha$ -tocoferol na erva desidratada e 0,56 mg na fresca e na porção de aproximadamente 20 g (15 kcal) de espinafre cozido (2 colheres e meia de sopa) tem-se 0,13 mg de  $\alpha$ -tocoferol. Sendo assim, o alecrim pode contribuir com a ingestão adequada de vitamina E, podendo ser usado na forma fresca ou seu pó moído seco para cozinhar, aromatizar e conservar alimentos (SASIKUMAR, 2012).

É importante ressaltar que as informações sobre a concentração de vitamina E em ervas e fitoterápicos são muito escassas. Dessa forma, esse é um grande diferencial do presente estudo, ao trazer a concentração de vitamina E em uma erva comum para população brasileira.



**Figura 4:** Representação fotográfica de porção de alecrim usualmente comercializada (5 gramas).

Fonte: Acervo pessoal

Não foi observada diferença significativa nas concentrações de vitamina C,  $\beta$ -caroteno e luteína entre a infusão gelada e a quente ( $p>0,05$ ) (Tabela 2). Observou-se concentração bastante reduzida desses componentes nos chás quando se compara com a erva fresca e desidratada, sugerindo que o consumo na forma de chá não contribui de maneira importante para a ingestão de vitamina C e carotenoides e que ocorre uma redução considerável ao preparar o chá ou uma baixa transferência dos compostos para a água utilizada nas infusões.

**Tabela 2:** Concentração de vitamina C e carotenoides nas infusões quente e gelada de alecrim.

Compostos	Infusão gelada	Infusão quente
Vitamina C ( $mg.100mL^{-1}$ )	0,405 $\pm$ 0,251 <sup>a</sup>	0,402 $\pm$ 0,136 <sup>a</sup>
Carotenoides ( $mg.100mL^{-1}$ )*		
$\beta$ -Caroteno	0,002(0,001-0,002) <sup>a</sup>	0,001(0,001-0,007) <sup>a</sup>
Luteína	0,033(0,028-0,039) <sup>a</sup>	0,028(0,021-0,028) <sup>a</sup>
Valor de Vitamina A ( $RAE.100mL^{-1}$ )	0,16	0,25

Dados expressos em base fresca como média de 3 repetições  $\pm$  desvio padrão.

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para cada componente, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste t.

\*Mediana, mínimo e máximo – Teste não paramétrico Mann Whitney

### **3.3. Minerais e metais pesados no alecrim**

Estudos sobre a composição mineral em alecrim são escassos e direcionados à análise no óleo essencial (TAKAYAMA et al., 2016).

O potássio foi o mineral encontrado em maior concentração no alecrim desidratado (2943,44 mg.100g<sup>-1</sup>). Esse é um achado importante, evidenciando o alecrim como uma importante fonte de potássio. Franco et al. (2011) encontraram que a planta mais rica em potássio foi o chapéu-de-couro (3758,50 mg.100g<sup>-1</sup>) e a de menor concentração, a camomila (752,33 mg.100g<sup>-1</sup>). O potássio é o principal mineral do fluido intracelular, sendo um elemento necessário para o crescimento e manutenção corporal (BEYER, 2012).

O alecrim desidratado apresentou 30,76 mg.100g<sup>-1</sup> de ferro, quantidade maior que a relatada por Franco et. al. (2011) em pata-de-vaca (15,10 mg.100g<sup>-1</sup>) e similar em chapéu-de-couro (36,78 mg.100g<sup>-1</sup>). Segundo He et al. (2005), a concentração de Fe pode aumentar devido ao uso de fungicidas, pesticidas e herbicidas.

A maior concentração de cálcio encontrada no alecrim desidratado pode, provavelmente, ser devido à aplicação de fertilizantes químicos no solo, que contém em sua formulação este nutriente ou devido ao processo de calagem (CORRÊA et al., 2002). No estudo de Heinrichs e Malavolta (2001) foi encontrado 630 mg.100g<sup>-1</sup> de cálcio na erva-mate desidratada, concentração menor que no alecrim do presente estudo (983,33 mg.100g<sup>-1</sup>).

As concentrações de fósforo, magnésio, cobre e cromo se mostram relevantes. O alecrim do presente estudo superou a concentração de magnésio, cobre e cromo, quando comparado com o encontrado para esses minerais em erva-mate (HEINRICHS e MALAVOLTA, 2001).

A quantidade de manganês presente no alecrim foi muito menor que a relatada por Heinrichs e Malavolta (2001) em erva-mate (88,00 mg.100g<sup>-1</sup>) que afirmaram que essa planta é uma importante fonte de manganês e que a maioria dos alimentos e plantas apresentam concentração muito reduzida desse mineral.

As concentrações de minerais em ervas sofrem interferência de vários fatores, tais como espécie e variedade do vegetal, condições de cultivo, como fertilidade do solo e pH, suprimento de água, variações climáticas e sazonais, uso de fertilizantes e agrotóxicos e disponibilidade dos elementos no solo (EKHOLM et al., 2007).

**Tabela 3:** Concentração de minerais e metais pesados em alecrim desidratado.

<b>Minerais</b>	<b>Concentração (mg.100g<sup>-1</sup>)*</b>
Fósforo (P)	236,67±5,77
Potássio (K)	2943,33±65,06
Cálcio (Ca)	983,33±11,55
Magnésio (Mg)	270,00±10
Enxofre (S)	276,67±5,77
Cobre (Cu)	0,96±0,03
Ferro (Fe)	30,76±0,96
Zinco (Zn)	2,09±0,01
Manganês (Mn)	1,35±0,03
Sódio (Na)	77,67±1,53
Cromo (Cr)	0,43±0,01
<b>Metais pesados</b>	
Cádmio (Cd)	nd
Níquel (Ni)	nd
Chumbo (Pb)	0,09±0,003
Alumínio (Al)	438,29±158,81

\*Dados expressões em matéria seca como média de 3 repetições ± desvio padrão.  
nd: não detectado.

No presente estudo foi encontrado chumbo no alecrim do presente estudo, sendo que esse composto existe naturalmente em plantas, resultando de processos de captação e incorporação (SCHIFER, JUNIOR e MONTANO, 2005). No Brasil, a Portaria nº 685 de 27/08/1998, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, estabelece limites máximos de tolerância para o chumbo em alimentos, nas condições que são consumidos. Esses limites variam de 0,05 a 2,00 mg.Kg<sup>-1</sup> de alimento. A RDC nº 42 de 29/08/2013, que dispõe sobre o regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, determina que em chás, erva mate e outras ervas para infusão, o limite para chumbo é 0,60 mg.kg<sup>-1</sup>, estando o alecrim analisado em nosso estudo dentro do limite em relação a Portaria nº 685 e um pouco acima da recomendação pela RDC nº 42 (0,90 mg.kg<sup>-1</sup> de erva).

A ingestão diária tolerável provisória (PTDI) para o chumbo é de 3,60 µg.Kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo, enquanto que a ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) é de 25,00 µg.Kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo, ambas recomendadas pela Organização Mundial da Saúde (FAO/WHO, 1987 *apud* SALGADO, 2003). O contaminante ambiental mais comum é o chumbo, sendo absorvido pelo

organismo por via inalatória ou oral e destacando-se em regiões onde o metal e seus compostos são amplamente utilizados (BRUNKEN et al., 2002; OLGA, 2003).

Não foram encontrados níquel (Ni) e cádmio (Cd) no alecrim, indicando que não há contaminação desta erva com estes elementos, o que é um achado importante, pois são considerados tóxicos. Michie & Dixon (1977) revelam que as folhas de plantas usadas para preparo de infusões apresentam a capacidade de complexar metais, que beneficia a retenção de metais tóxicos como o Pb e Cd, evitando sua ingestão. Segundo a RDC nº 42 de 29/08/2013, que regulamenta sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, chás, erva mate e outras ervas para infusão, o limite é de 0,4 mg.kg<sup>-1</sup> para cádmio, porém essa legislação não faz referência aos limites para níquel e alumínio.

Observou-se alta concentração de alumínio (Al) em 100 g de alecrim desidratado, constatando-se que a ingestão dessa erva na forma de condimento, ultrapassa muito a recomendação segura (21,91 mg.5g<sup>-1</sup>). Essa informação serve de alerta, uma vez que, baseando-se na toxicidade do Al e de seus efeitos no crescimento, reprodução, tecido ósseo e fisiologia cerebral, Natesan e Ranganathan et al. (1990) citam que o consumo de até 20,00 mg de Al por dia é inofensivo e, de acordo com Soliman e Zikovsky (1999), a ingestão dietética de Al não deveria exceder 6,00 mg/dia.

Oliveira et al., (2005) também relatam alta concentração de alumínio na erva-mate (90,00 mg.100g<sup>-1</sup>), porém esse valor é bem menor que o encontrado no alecrim (438,29 mg.100g<sup>-1</sup>). Estudos sobre o Al relatam que altas concentrações ocorrem em regiões nucleares do tecido cerebral no hipocampo de pacientes com doença de Alzheimer. No entanto, não se sabe se o Al está relacionado etiologicamente com a doença ou se tem alguma afinidade com essas regiões com anomalias (MACDONALD et al., 1987).

O alumínio é um dos elementos mais abundantes da crosta terrestre, está presente em partículas de pó, vegetais e utensílios domésticos (OLIVEIRA et al., 2005). A ingestão de alumínio é elevada, sendo que a dieta habitual fornece de 5,00 a 10,00 mg de alumínio por dia, que são quase que totalmente eliminados via gastrointestinal e pequena fração reabsorvida é eliminada pelos rins (FRAZÃO e COBURN, 1996 *apud* OLIVEIRA et al., 2005).

Pontos importantes que interferem no acúmulo de elementos traços nos solos, podendo contaminar os alimentos com elementos tóxicos, além de aumentar sua biodisponibilidade devido às alterações químicas são o uso de fertilizantes e agrotóxicos, atividades urbano-industriais, tipo de irrigação e adubação (HE et al., 2005). Os metais pesados e dioxinas, importantes químicos encontrados no meio ambiente, especialmente nas áreas mais industrializadas podem contaminar alimentos, bem como água contaminada utilizada para irrigação (HE et al., 2005; BAKER et al., 2002; PUSSEMIER et al., 2006).

### **3.4. Flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante do alecrim**

No presente estudo verificou-se que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) nas concentrações de flavonoides (flavonas e flavanonas) entre a erva fresca e a desidratada (Tabela 4). Neste estudo identificou-se concentrações de flavonoides semelhantes ao relatado por Abreu (2013) em funcho, boldo, melissa, camomila, hibiscos e menor que a encontrada em hortelã, erva mate e carqueja.

As folhas do alecrim contêm vários compostos antioxidantes, dentre eles os flavonoides (GONZALEZ-VALLINAS et al., 2014). Tais compostos possuem efeitos benéficos à saúde, tendo destaque sua capacidade de reduzir a proliferação, diferenciação e apoptose de células cancerígenas (ARAÚJO et al., 2010). De acordo com Oliveira (2015), a temperatura e tempo de armazenamento são importantes fatores relacionados à preservação dos flavonoides e propriedades funcionais durante a vida de prateleira do alimento, podendo esses fatores levar a perdas de flavonas e flavanonas devido à baixa estabilidade desses componentes e, conseqüentemente, baixa retenção ao passar pelo processo de aquecimento.

As concentrações de flavonoides podem ser afetadas por diferentes tipos de processamento e fabricação de chás (ZHU et al. 2002; KODOMA et al., 2010). Fatores ambientais, como sazonalidade, temperatura, altitude, estresse, radiação e umidade podem influenciar o metabolismo vegetal e indiretamente alterar a produção de compostos químicos pelas plantas, como flavonoides e polifenóis (SIQUEIRA et al., 2007; SANTOS et al., 2009).

Em relação à concentração de compostos fenólicos, observou-se que não houve diferença significativa ( $p>0.05$ ) entre as ervas fresca e desidratada. Em nosso estudo, observou-se concentrações muito maiores de compostos fenólicos em alecrim fresco e desidratado (81,38 e 95,19 mg.GAE.100g<sup>-1</sup>, respectivamente) do que o apresentado por Goncalves, Santos e Morais (2015), que encontraram 2,90 mg.100g<sup>-1</sup> equivalente de ácido gálico em extrato aquoso de alecrim desidratado.

**Tabela 4:** Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante do alecrim fresco e desidratado

Compostos	Erva fresca	Erva desidratada	Retenção Real* (%)
<i>Flavonas (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
Luteolina	340,39±162,36 <sup>a</sup>	166,00±138,50 <sup>a</sup>	18,77
Apigenina	44,00±18,40 <sup>a</sup>	88,40±68,60 <sup>a</sup>	77,34
<i>Flavanonas (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
Eriodictiol	8,40±9,00 <sup>a</sup>	11,90±7,10 <sup>a</sup>	54,54
Naringenina	30,10±12,70 <sup>a</sup>	20,00±16,50 <sup>a</sup>	25,58
<i>Flavonoides Totais (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	5,22±1,33	3,00±2,26	-
<i>Fenólicos totais (mg.GAE.100g<sup>-1</sup>)</i>	95,19±8,75 <sup>a</sup>	81,38±28,50 <sup>a</sup>	32,91
%AAR	75,09±24,15 <sup>a</sup>	77,18±21,76 <sup>a</sup>	-

Dados expressos em base fresca e seca como média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo Teste t.

mg GAE: mg de ácido gálico; %AAR: atividade retirada de radical

\*Retenção Real (%RR): Calculado de acordo com a fórmula de Murphy, Criner e Gray (1975) -  

$$\% RR = \frac{\text{Concentração do composto na erva processada} \times \text{peso (g) da erva processada}}{\text{Concentração do composto na erva antes do processamento} \times \text{peso (g) da erva antes do processamento}} \times 100$$

Quanto à capacidade antioxidante, também não foi observada diferença significativa entre a erva fresca e desidratada ( $p>0.05$ ). A capacidade antioxidante apresentada pela erva nos dois tratamentos foi similar ao relatado por Abreu (2013), que concluiu que a erva cidreira, endro, erva doce, mate possuem bom potencial, semelhante ao alecrim de nosso estudo.

No estudo de Alezandro et al. (2011), verificou-se uma grande variabilidade dos resultados para a capacidade antioxidante, oscilando entre 55,20% (cebolinha), 73,80% (manjeriçã), 91,20% (camomila) e 97,20% (salsa),

sendo a do manjeriço próxima ao resultado encontrado em nosso estudo para alecrim.

A diversidade de resultados pode ser explicada por diferenças na composição química entre as ervas, especialmente com relação à presença de compostos antioxidantes (vitaminas, carotenoides, flavonoides, compostos fenólicos e outros), bem como ao emprego de diferentes processos de extração, o que resultaria em extratos com diferentes concentrações destes compostos e, conseqüentemente, com diferentes valores de capacidade antioxidante (ALEZANDRO, 2011).

Del-Ré e Jorge (2011) afirmam que a boa capacidade antioxidante apresentada pelas especiarias está relacionada, principalmente, com a presença de compostos fenólicos totais, uma vez que em virtude de sua diversidade química, podem atuar benéficamente a saúde, combatendo os radicais livres, quelando metais de transição, modificando o potencial redox do meio e reparando a lesão das moléculas atacadas por radicais livres.

Em relação às infusões de chás, não foi possível realizar a quantificação dos flavonoides, uma vez que apenas traços dos mesmos foram encontrados impossibilitando a identificação dos picos e quantificação. Dessa forma, dois fatores podem ter ocorrido: 1) transferência extremamente reduzida dos flavonoides do alecrim para as infusões; 2) redução drástica da concentração de flavonoides nas infusões.

Sabe-se que diversos fatores influenciam a qualidade das infusões de chá e as concentrações de seus compostos bioativos, dentre eles as práticas agrônômicas e tempo de infusão (LIMA et al., 2004). Esta é uma hipótese que pode explicar o comportamento apresentado nas infusões de chás, podendo ter ocorrido uma transferência baixa de flavonoides da erva para as infusões.

Em relação à concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante nas infusões de chás, observou-se que não houve diferença estatística significativa ( $p > 0.05$ ) (Tabela 5).

As concentrações de fenólicos totais nas infusões de alecrim obtidas neste trabalho foram bem inferiores às descritas na literatura para chá vermelho e hibiscos, respectivamente (25,54 mg.GAE.g extrato<sup>-1</sup>; 12,34 mg.GAE.g extrato<sup>-1</sup>) (ABREU, 2013). Diversos fatores podem interferir na concentração de fenólicos em plantas, como o solo, clima, condições fisiológicas da planta para a

extração e o tempo de infusão (PEREIRA et al., 2009). A capacidade antioxidante das infusões de alecrim foi menor que a encontrada em chás de maçã, erva doce, marcela e carqueja (ABREU, 2013).

**Tabela 5:** Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante nas infusões de alecrim quente e gelada.

<b>Compostos</b>	<b>Infusão gelada</b>	<b>Infusão quente</b>
<i>Flavonas (mg.100mL<sup>-1</sup>)</i>		
Luteolina	nd	nd
Apigenina	nd	nd
<i>Flavanonas (mg.100mL<sup>-1</sup>)</i>		
Eriodictiol	nd	nd
Naringenina	nd	nd
<i>Fenólicos totais (mg.GAE.100mL<sup>-1</sup>)</i>	0,16±0,17 <sup>a</sup>	0,26±0,23 <sup>a</sup>
<i>%AAR<sup>1</sup></i>	9,83±4,26 <sup>a</sup>	38,14±19,00 <sup>a</sup>

Dados expressos em base fresca e seca como média de 3 repetições ± desvio padrão.

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para cada composto, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste t.

nd: não detectado; %AAR: atividade de retirada de radical

A literatura aponta altos valores de capacidade antioxidante em diferentes variedades de ervas e especiarias utilizadas no preparo de chás. Contudo, é importante destacar que diferentes resultados entre estudos podem estar relacionados com o genótipo das espécies estudadas, época de colheita, fatores ambientais (solo, temperatura e umidade), interferindo na concentração de compostos bioativos e, conseqüentemente, na capacidade antioxidante (CHUN et al., 2005; ALEZANDRO et al., 2011). Portanto o conhecimento das propriedades antioxidantes de ervas de nosso consumo diário pode direcionar a população na escolha de ervas com maior poder medicinal.

O estudo de antioxidantes é muito importante, visto que sua presença nos alimentos mostra-se aliada à redução dos níveis de LDL plasmáticos e ao aumento na produção de prostaglandinas que inibem a agregação plaquetária, a oxidação da LDL, além de atuar na prevenção de câncer e desordens cerebrais degenerativas relacionadas ao envelhecimento (WELLWOOD e COLE, 2004; AFONSO, SANT'ANA e MANCINI-FILHO, 2010).

### 3.5. Potencial de contribuição do alecrim e suas infusões para o atendimento das recomendações de vitaminas e minerais

De acordo com Phillipi (2004), os alimentos podem ser classificados como "fontes" de algum nutriente quando suprem de 5 a 10% das *Dietary Reference Intake* (DRI), como "boas fontes" quando suprem de 10 a 20% da DRI e como "excelentes fontes", quando atendem mais de 20% da DRI. Considerando esses critérios e comparando-se com os valores de necessidades diárias de minerais e vitaminas, uma porção de 5 g/dia (Tabela 6) de alecrim desidratado pode ser considerado fonte desses minerais.

**Tabela 6:** Potencial de contribuição do alecrim e suas infusões para o suprimento das recomendações diárias de vitaminas e minerais para homens adultos.

Compostos	Potencial de contribuição (%)			
	Alecrim fresco (porção de 5g)	Alecrim desidratado (porção de 5g)	Infusão quente (porção de 2g)	Infusão gelada (porção de 2g)
Vitamina A*	3,15	4,52	0,04	0,03
Vitamina C*	0,90	0,65	0,89	0,9
Vitamina E*	6,30	5,20	-	-
Fósforo (P)**	-	1,70	-	-
Potássio (K)**	-	7,35	-	-
Cálcio (Ca)*	-	4,92	-	-
Magnésio (Mg)*	-	10,28	-	-
Cobre (Cu)**	-	5,30	-	-
Ferro (Fe)*	-	10,98	-	-
Zinco (Zn)*	-	1,43	-	-
Manganês(Mn)**	-	2,93	-	-
Sódio (Na)**	-	0,20	-	-
Cromo (Cr)**	-	61,42	-	-

Porção baseada na quantidade usualmente comercializada na forma de condimento (5g) e em sachês para preparação de chás (2g)

\*Calculado com base FAO/OMS. Human Vitamin and Mineral Requirements. In: Report 7 Joint FAO/OMS Expert Consultation, Bangkok, Thailand, 2001. Xxii + 286p.

\*\*Calculado com base Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes. National Academic Press, Washington D. C., 1999-2001.

- : Não foram realizadas análises de minerais e vitamina E nesses tratamentos

Observou-se neste estudo que o alecrim fresco e desidratado podem ser considerados como fonte de vitamina E. Sabe-se que essa vitamina está presente em tecidos vegetais, sendo as principais fontes os vegetais folhosos verde escuros, oleaginosas e óleos vegetais (KRINSKY, 2003), corroborando com nosso achado no alecrim. As informações sobre a concentração desta vitamina em vegetais e ervas é escassa e a literatura aponta que a concentração nos alimentos sofre interferência de muitos fatores, como condições de cultivo, solo, clima e processamento (GUINAZI, 2004).

O alecrim desidratado se mostrou boa fonte de ferro e magnésio na porção de 5 g. Em relação ao cromo, considerando essa porção diária (5g), é possível atingir 61,42% da recomendação de ingestão diária desse mineral, sendo o alecrim desidratado uma excelente fonte. Este mineral potencializa os efeitos da insulina, melhorando a tolerância a glicose, reduzindo a concentração plasmática de colesterol e promovendo maior estímulo de captação de aminoácidos (GOMES, ROGERO, TIRAPEGUI, 2005). Ressalta-se a importância da ingestão dentro dos limites de segurança desse mineral, visto que são desconhecidos os possíveis efeitos colaterais da ingestão de cromo até 800,00 µg/dia, bem como sua toxicidade (OMS, 1998). Uma possível contraindicação da ingestão de altas doses para o organismo refere-se ao prejuízo no estado nutricional relativo ao ferro, devido ao fato do cromo competir com o ferro pela ligação com a transferrina (TRUMBO, et al., 2001).

Quanto ao cálcio, fósforo, manganês, vitamina C e vitamina A, uma porção da erva desidratada, pode contribuir com 4,92%, 1,70%, 2,93%, 0,65% e 4,52% respectivamente, das necessidades nutricionais diárias desses nutrientes, não sendo o alecrim considerado fonte desses nutrientes.

Sabe-se que os minerais participam de muitas funções e processos metabólicos no organismo humano. A literatura mostra que a ingestão adequada de elementos como sódio, potássio, magnésio, cálcio, manganês, cobre e zinco reduz fatores de risco para doenças cardiovasculares, como hipertensão e doença arterial coronariana (SANCHEZ-CASTILLO et al., 1998).

Destaca-se o potássio, que atua regulando o funcionamento do sistema muscular e os batimentos cardíacos. O ferro como componente das moléculas de hemoglobina, mioglobina, citocromo e de alguns sistemas enzimáticos, desempenha um papel essencial no transporte de oxigênio e respiração celular

(OLGA, 2003). Por sua vez, o manganês atua como cofator enzimático, ativando uma série de enzimas que catalisam reações metabólicas, sendo elemento importante para reprodução e crescimento (ALMEIDA, et al., 2002).

O potencial de contribuição para vitamina A e vitamina C nas infusões do alecrim quente e gelada foi muito reduzido, sugerindo que a ingestão dessas infusões não contribui de maneira importante para o suprimento das recomendações diárias dessas vitaminas. A reduzida quantidade de vitamina A nas infusões pode ser justificada pela baixa transferência do composto, uma vez que se trata de uma vitamina lipossolúvel e que a extração em meio aquoso pode ser ineficiente para liberação da mesma. No entanto, observou-se que as infusões de alecrim podem contribuir com efeitos benéficos à saúde devido à sua capacidade antioxidante apresentada.

Porém a literatura relata efeitos benéficos do chá na redução do colesterol plasmático, pressão sanguínea, redução de proliferação de células cancerígenas, melhora no processo digestivo, entre outros (STAVRIC, 1994; KONO, et al., 1997).

#### **4. CONCLUSÃO**

O alecrim apresentou alto valor de umidade e boa concentração de fibras, sendo destaque a fibra insolúvel. Não foram observadas diferenças significativas quanto às concentrações de vitamina C, carotenoides, vitamina E, flavonoides, compostos fenólicos e capacidade antioxidante entre a erva na forma fresca e desidratada e entre as infusões dos chás. A concentração de cromo, ferro, magnésio, potássio e cobre foi expressiva no alecrim fresco e desidratado. A alta concentração do metal pesado alumínio encontrado na erva desidratada é motivo de preocupação. O alecrim desidratado se mostrou fonte de potássio e cobre, boa fonte de ferro e magnésio e excelente fonte de cromo, sendo também fonte de vitamina E na forma fresca e desidratada. As concentrações de vitaminas C e A nas infusões foram insignificantes. Assim, o alecrim fresco e desidratado se mostraram fontes de fibras e micronutrientes importantes à saúde humana e as concentrações de vitaminas nas infusões não foram um diferencial para se atingir as recomendações nutricionais.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. **Estudo do poder antioxidante de infusões de ervas utilizadas como chás**. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria – RS, Brasil, 2013. 88p.

ACHOUR, et al. A Comprehensive Characterisation of Rosemary tea Obtained from *Rosmarinus officinalis* L. Collected in a sub-Humid Area of Tunisia. **Phytochemical Analysis**. v. 29, n. 1, p. 87-100, Jan. 2018.

AFONSO, M. S.; SANTANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). **Nutrire: revista Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, São Paulo, SP, v. 35, n. 1, p. 129-148, abr. 2010.

ALEZANDRO, M. R. et al. Commercial spices and industrial ingredients: evaluation of antioxidant capacity and flavonoids content for functional foods development. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 527-533, 2011.

ALMEIDA, D. M. et. al. Teores de óleo essencial e flavonóides totais em amostras de *Rosmarinus officinalis* L. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 91. n. 4, p. 170-5, 2010.

ALMEIDA, M. M. B. et al. Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.1, p. 94-97, 2002.

ALMEIDA, M. M. B. et al. Determinação de umidade, fibras, lipídios, cinzas e sílica em plantas medicinais. **Boletim do Centro de Processamento de Alimentos**, v.21, n.2, p.343-350, 2003.

ALVAREZ V., V.H. et al. **Métodos de análises de enxofre em solos e plantas**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2001. 131p.

ANGIONI, Alberto et al. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3530-3535, 2004.

ARAÚJO, W.M.C. et al. Transformação dos alimento: Hortaliças, Cogumelos, Algas e Frutas. In: ARAÚJO, W.M.C. et al. **Alquimia dos alimentos**. Brasília: Editora Senac, 2010.

AZZI, A.; STOCKER, A. Vitamin E: non-antioxidants roles. **Progress Lipid Research**, V. 39, P. 231-55, 2000.

BAKER, B. P.et. al. Pesticide residues in convencional, integrated pest manegement (IPM)-grown and organic foods: insights from three US data sets. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, n.5, p. 427-446, 2002.

BERTOL, A.; ALMEIDA, S. M. Z.; ALMEIDA, L. P. Determinação de minerais em algumas plantas medicinais utilizadas em xanxerê – oeste catarinense. **Unoesc & Ciência** - ACBS Joaçaba, v. 6, n. 1, p. 53-58, jan./jun. 2015.

BEYER, P. L. Digestão, absorção, transporte e excreção de nutrientes. In: MAHAN, L.K., ESCOTT-STUMP, S., RAYMOND, J.L. **Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

BLOOR, S. J. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. In: LESTER, P. (Ed.). **Methods in Enzymology**: Academic Press, v. 335, 2001. p.3-14.

BRAGA, J.M. e DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica do fósforo em extrato de solo e plantas. **Revista Ceres**, v. 21: p. 73-85, 1974.

BRUNKEN, G. S.; GUIMARÃES, L. V.; FISBERG, M. Anemia em crianças menores de 3 anos que frequentam creches públicas em período integral. **Jornal de Pediatria**, v. 78, p. 50-56, 2002.

BUCHHOLZ, A. C.; SCHOELLER, D. A. Is a calorie a calorie? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 899-906, May, 2004.

CAMPOS, F. M. et al. Optimization of methodology to analyze ascorbic and dehydroascorbic acid in vegetables. **Química Nova** [S.l.], v. 32, p. 87-91, 2009.

CARDOSO, L. M et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. **Food chemistry**, v. 152, p. 210-217, 2014.

CARVALHO-JUNIOR, R. N. et al. Comparison of the global yield and chemical composition of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extracts obtained by hidrodistillation and SFE. In: **Encontro brasileiro de fluidos supercríticos**, V, 2004, Florianópolis. Caderno de Resumos do V EBFS. Florianópolis: EQA/CTC/UFSC, 2004. 81 p.

CHUN, S. S. et al. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry, Amsterdam**, v. 40, n. 2, p. 809-816, 2005.

CORRÊA, F. L. O. et. al. Acúmulo de nutrientes em mudas de aceroleira adubadas com fósforo e zinco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 765-769, 2002.

CORREIA, L. F. M.; FARAONI, A. S.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Efeitos do processamento industrial de alimentos sobre a estabilidade de vitaminas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 83-95, 2008.

DEL-RÉ, P. V.; JORGE, N. Antioxidant potential of oregano (*Origanum vulgare* L.), basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.): application of

oleoresins in vegetable oil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 4, p. 955-959, 2011.

DYKES, Linda et al. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 313-317, 2009.

EKHOLM, P. et. al. Changes in the mineral and trace element contents of cereals, fruits and vegetables in Finland. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 6, p. 478-495, September, 2007.

FERLEMI, et al. Rosemary tea consumption re-sults to anxiolytic- and antidepressant-like behavior of adult male mice and inhibits all cerebral area and liver cholinesterase activity; phytochemical investigation and in silico studies. **Chemistry Biotechnology Interact**, n. 5, p. 237:47, 2015.

FRANCO, M. J. et al. Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama-PR. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, n. 2, v. 15, p. 121-127, 2011.

FREITAS, T. O. N. et al. Avaliação do conhecimento e percepção dos profissionais da estratégia de saúde da família sobre o uso de plantas medicinais e fitoterapia em Petrolina-PE, Brasil. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, p.57-66, 2016.

FRAZÃO, M. J, COBURN, W. Aluminium toxicity in patients with end-stage renal disease: Diagnosis, treatment and prevention. **Revista Portuguesa de Nefrologia e Hipertensão**, v. 1, n. 10, p. 85-112, 1996.

GENENA, A. K. et al. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (Rosmarinus officinalis L.): estudo de sua ação antioxidante**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Florianópolis. 2005.

GOMES, M. R.; ROGERO, M. M. TIRAPEGUI, J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. **Revista Brasileira Medicina do Esporte**, v. 11, n. 5, Set/Out, 2005.

GONÇALVES, J. H. T.; SANTOS, A. S.; MORAIS, H. A. Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 13, n. 1, p. 486-497, 2015.

GONZALEZ, M. et. al. Antitumor effect of 5-fluorouracil is enhanced by rosemary extract in both drug sensitive and resistant colon cancer cells. **Pharmacological Research, Elsevier**, USA, v.72, p.61-68, 2014.

GUINAZI, M. **Tocoferóis e tocotrienóis em hortaliças ovos e óleos vegetais utilizados em restaurantes comerciais**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

HEINRICHS e MALAVOLTA. Composição mineral do produto comercial da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, 2001.

HRAŠ, A. R et al. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food chemistry**, v. 71, n. 2, p. 229-233, 2000.

HE, X. et. al. Chemical fingerprint analysis for quality control and identification of Ziyang green tea by HPLC. **Food Chemistry**, 171, 405–411, 2005.

KODOMA, D. H. et. al. Flavonoids, total phenolics and antioxidante capacity: comparison between commercial green tea preparations. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, out/dez, 2010.

KONO, Y. et al. Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1335, p. 335-342, 1997.

KRINSKY, N. I. Human requirements for fat-soluble vitamins, and other things concerning these nutrients. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, p. 317-24, 2003.

LEAL, P. F. et. al. Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 2520-2525, 2003.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A; LIMA, D. E. S. Teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiro. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 7, n. 2, p. 187-190, jul/dez. 2004.

MACDONALD, T.L., HUMPHREYS, W.G., MARTIN, R.B. **Promotion of tubulin assembly by aluminium ion in vitro**. Science, Washington, v.236, p.183-186, 1987.

MATTEA, F. et al. Natural antioxidants obtained with supercritical CO<sub>2</sub>. V **Encontro brasileiro de fluidos supercríticos**, Florianópolis–SC, 2004.

MICHIE, N.D., DIXON, E.J. Distribution of lead and other metals in tea leaves, dust and liquors. **Journal Science Food Agriculture**, London, v.28, p.215-224, 1977.

MOON, Y. J.; WANG, X. **Dietary flavonoids: effects on xenobiotic and carcinogen metabolism**, n. 187, p. 20, 2006.

MORAIS, S. M. de. et. al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira Farmacologia**. v.19, n.1b, pp.315-320, 2009.

NASSU, R. T. et al. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. **Meat Science**, v. 63, n. 1, p. 43-49, 2003.

NATESAN, S., RANGANATHAN, V. Content of various elements in different parts of the tea plant and in infusions of black tea from southern India. **Journal Science Food Agriculture**, London, v.51, p.125 – 139, 1990.

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL, 16<sup>TH</sup> Edition, Volume I, Section 12.1.07, **Method**, 960.52 (2005).

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL, 16<sup>TH</sup> Edition, Volume II, Section 45.4.07, **Method**, 985.29 (1997).

OLAN, et al. The study of polyphenolic compounds profile of some Rosmarinus officinalis L. extracts. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 29, p. 2355-2361, Nov, 2016.

OLGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Cromo. In: Elementos traço na nutrição e saúde humanas**. São Paulo: Rocca, p. 135-8, 1998.

PEDRO, F.G.G. et al. Composição centesimal e mineral de plantas medicinais comercializadas no mercado do Porto de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.297-306, 2016.

PEREIRA, M. G. **Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de aves**. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria – UFSM. p. 128, 2009.

PEREIRA-ANGELIS, M. C. et al. Mecanismos moleculares de ação anti-inflamatória e antioxidante de polifenóis de uvas e vinho tinto na aterosclerose. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15,n. 4, p 617-626, 2013.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e dietética**. Barueri: Manole, 2004.

PIIRONEN, et al., Tocopherols and tocotrienols in finnish foods: vegetables fruits, and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, p. 742-46, 1986.

PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8496-8502, 2011.

PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. et al. Evaluation of total carotenoids, alfa and beta-carotene in carrots (Daucus carota L.) during home processing. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 39-44, 1998.

PUSSEMIER, L. et. al. Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuffs: a tentative comparison under Belgian conditions. **Food Control**, v.17, p.14–21, 2006.

RESOLUÇÃO - RDC Nº 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos.**

RODRIGUES, V. de C. **Compostos bioativos de chás: comparação das infusões a quente e a frio.** Dissertação de Mestrado. 2015.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. **A guide to carotenoid analysis in foods.** ILSI press. Washington D. Washington DC, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. Carotenoid changes in ripening *Momordica charantia*. **Annals of Botany**, v. 40, p. 615-624, 1976.

SAENZ-LOPEZ, R.; FERNANDEZ-ZURBANO, P.; TENA, M. T. Capillary electrophoretic separation of phenolic diterpenes from rosemary. **Journal of Chromatography A**, v. 953, n. 1-2, p. 251–256, 2002.

SALGADO, P. E. de T. Metais em Alimentos. In: OGA, Seizi. **Fundamentos de Toxicologia**. 2. Ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p.411-415.

SANTOS, A. et al. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função da sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmacologia**. v. 19, p. 436-431, 2009.

SANTOS, J. R. **Determinação do teor de fibra alimentar em produtos hortofrutícolas.** Dissertação de mestrado. Instituto Superior de Agronomia. Universidade de Lisboa. Lisboa, 2013.

SANCHEZ-CASTILLO, C. P. et al. The mineral content of Mexican fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 11, n. 4, p. 340-356, December, 1998.

SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. **Análise química de plantas.** Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 56p. 1974.

SASIKUMAR, B. 2012. 25 – **Rosemary A2** –.In Handbook of Herbs and Spices, second edn. Peter KV (ed.). Woodhead Publishing: Sawston; 452–468.

SCHIFER, T. S.; STANISLAU, B. J.; MONTANO, M. A. Aspectos toxicológicos do chumbo. **Informa**, v. 17, n. 5/6, 2005.

SIMÃO, A. A. **Composição química, eficácia e toxicidade de plantas medicinais utilizadas no tratamento de obesidade.** 2013. 182 p. Tese (Doutorado – Área de concentração Agrouímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SIQUEIRA, E. P. ALVES, T. M. A. e ZANI, C. L. Fingerprint of volatiles from plant extracts based on SPME-GC-MS. **Revista Brasileira Farmacologia**. v. 17, p. 565-571, 2007.

SOLIMAN, K.; ZIKOVSKY, L. (1999). Concentrations of Al in food sold in Montreal, Canada, and its daily dietary intake. **Journal Radional Nuclear Chemistry**, v. 242, n. 3, p. 807-809, 1999.

STAVRIC, B. Role of chemoprevents in human diet. **Clinical Biochemistry**, v. 27, n. 5, p. 319-332, 1994.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** – TACO 4<sup>a</sup> edição revisada e ampliada. NEPA – UNICAMP. - 4. ed. rev. e ampl. -- Campinas: NEPA- UNICAMP, p. 161, 2011.

TAKAYAMA, et al. Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the rat. **Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine**, v. 8, n. 6, p. 677–681, 2016.

THORSEN, M. A.; HILDEBRANDT, K. S. Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts - Aspects of accurate quantification. **Journal of Chromatography A**, v. 995, n. 1-2, p. 119-125, 2003.

TRUMBO P. et al. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. **Journal American Dietetic Association**, v. 101: p. 294-301, 2001.

VEADO, M. A. Metal pollution in the environment of Minas Gerais. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 117, n. 1-3, p. 157-72, Jun 2006.

WANG, et al. Report: Regional variation in the chemical composition and antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* L. from China and the Mediterranean region. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 31, p. 221-229, Jan, 2018.

WELLWOOD, C. R. L.; COLE, R. A. Relevance of carnosic acid concentrations to the selection of rosemary, *Rosmarinus officinalis* (L.), accessions for optimization of antioxidant yield. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 52, n. 20, p. 6101-6107, 2004.

WILSON, M. “**Figuring Out Fiber**”. Fact Sheet 99-19, Las Vegas, University of Nevada Cooperative Extension, 2p. 2009.

YANG, L. et al. Sorghum phenolics demonstrate estrogenic action and induce apoptosis in nonmalignant colonocytes. **Nutrition and cancer**, v. 64, n. 3, p. 419-427, 2012.

ZHU, Q. Y. et al. Antioxidative activities of oolong tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 23, p. 6929-6934, 2002.

ZIELINSKI, A. A. F. et al. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an

application of chemometrics. **Journal of food science**, v. 79, n. 4, p. C510C516, 2014.

## 5.2. ARTIGO 2: MACRONUTRIENTES, VITAMINAS, MINERAIS E COMPOSTOS BIOATIVOS EM MANJERICÃO (*Ocimum basilicum*) FRESCO, DESIDRATADO E SUAS INFUSÕES QUENTE E GELADA

### RESUMO

No presente estudo investigou-se o perfil e a concentração de nutrientes e compostos bioativos do manjericão (*Ocimum basilicum* L.) fresco e desidratado e seus chás preparados por infusão em água quente e gelada. A análise da composição centesimal e fibras, de acordo com a AOAC (2012). Vitamina C, vitamina E, carotenoides e flavonoides foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. Minerais e metais pesados foram determinados por ICP-AES. Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foram analisados por espectrofotometria. O manjericão apresentou elevada umidade (94,12%) e baixa concentração de lipídios ( $0,20 \text{ g} \cdot 100^{-1}$ ), carboidratos ( $5,25 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) e fibras ( $2,33 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). Verificou-se excelente retenção de  $\beta$ -caroteno na erva desidratada. As concentrações de carotenoides totais, vitamina C, vitamina E total e flavonoides totais no manjericão fresco (em  $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) foram 77,13; 4,01; 16,45 e 211,50, respectivamente. A luteolina e a naringenina foram os flavonoides encontrados em maior concentração no manjericão fresco e desidratado. Não se observou diferença nas concentrações de vitamina E, C, fenólicos totais e capacidade antioxidante entre o manjericão fresco e o desidratado e entre as infusões ( $p > 0,05$ ). O potássio e o cálcio foram os minerais encontrados em maior quantidade no manjericão desidratado ( $4170,00$  e  $1786,67 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , respectivamente). O manjericão desidratado se mostrou fonte de cobre, manganês e cálcio e boa fonte de ferro, potássio, cromo e vitamina A. As concentrações de vitaminas C e A nas infusões foram muito reduzidas. Desta forma, o consumo do manjericão, especialmente na forma desidratada, pode contribuir de forma importante para a ingestão diária de minerais, vitaminas C e E, não sendo as infusões uma forma de consumo relevante para se atingir as recomendações nutricionais.

**Palavras Chaves:** Erva aromática, infusões, carotenoides, micronutrientes, flavonoides, CLAE.

## ARTICLE 2: MACRONUTRIENTS, VITAMINS, MINERALS AND BIOACTIVE COMPOUNDS IN FRESH, DEHYDRATED BASIL (*Ocimum basilicum*) AND ITS HOT AND FROZEN INFUSIONS

### ABSTRACT

In the present study the profile and concentration of nutrients and bioactive compounds of fresh and dehydrated basil (*Ocimum basilicum* L.) and their teas prepared by infusion in hot and cold water were investigated. The analysis of the centesimal composition and that of fibers was done according to AOAC (2012). Vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids were analyzed by HPLC. Minerals and heavy metals were determined by ICP-AES. Total phenolic compounds and antioxidant capacity were analyzed by spectrophotometry. The basil had high humidity (94.12%) and low concentration of lipids ( $0.20 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ), carbohydrates ( $5.25 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) and fibers ( $2.33 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ). The dehydrated herb showed an excellent  $\beta$ -carotene retention. The concentrations of total carotenoids, vitamin C, total vitamin E and total flavonoids in fresh basil (in  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ) were 77.13; 4.01; 16.45 and 211.50, respectively. Luteolin and naringenin were the flavonoids found in higher concentration in fresh and dehydrated basil. There was no difference in vitamin E, C, total phenolic and antioxidant capacity between fresh and dehydrated basil and between infusions ( $p > 0.05$ ). Potassium and calcium were the most found minerals in dehydrated basil ( $4170.00$  and  $1786.67 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , respectively). Dehydrated basil was found to be a source of copper, manganese and calcium and a good source of iron, potassium, chromium and vitamin A. The concentrations of vitamins C and A in the infusions were very low. Thus, the consumption of basil, especially in the dehydrated form, can contribute significantly to the daily intake of minerals, vitamins C and E, and infusions are not a relevant form of consumption to reach nutritional recommendations.

**Keywords:** Aromatic herb, infusions, carotenoids, micronutrients, flavonoids, HPLC.

## 1. INTRODUÇÃO

Estudos demonstram que diversas ervas aromáticas são ricas em catequinas, flavonoides, vitaminas (C e complexo B) e compostos fenólicos, apresentando propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e antitumoral, as quais são importantes para a saúde e prevenção de doenças, como as coronariopatias (AKKOL et al., 2008; AFONSO, SANT'ANA & MANCINI-FILHO, 2010; GUILARDUCCI, 2016).

O manjericão (*Ocimum basilicum L.*), pertencente à família *Lamiaceae*, faz parte de um grupo de plantas medicinais e aromáticas de grande valor econômico. Dentre seus constituintes químicos, estão presentes óleos essenciais, taninos, flavonoides, cânfora, saponinas e ácido cafeico (SILVA, 2011). Seu uso vai além da culinária, tendo potencial medicinal por possuir substâncias com propriedades antioxidantes, antimicrobianas, inseticidas, antiácidas e fungicidas (CAROVIĆ-STANKO et al., 2010).

Além do termo manjericão, essa planta é conhecida por diferentes nomes tais como manjericão-doce, basilicão, alfavaca, alfavaca cheirosa, alfadega, entre outros. Suas folhas possuem coloração de verde clara a verde escura ou roxa, e são muito aromáticas (CARVALHO, 2012).

O manjericão pode ser encontrado na Ásia Tropical, África, América Central e América do Sul, existindo cerca de 150 espécies. Dentre elas, o *Ocimum basilicum L.* é a mais cultivada comercialmente devido às suas folhas verdes e aromáticas, sendo utilizadas na forma seca ou fresca, como condimento ou na obtenção de óleo essencial (JAYASINGHE et al., 2003; DANESI et al., 2008). Atualmente, o manjericão tem o cultivo difundido em muitos países, inclusive no Brasil, onde o clima é favorável (CARVALHO, 2012).

É amplamente empregado na fitoterapia e pela indústria alimentícia. De acordo com Duarte (2006), o uso de manjericão como antioxidante natural pode agregar estabilidade oxidativa em produtos alimentícios.

Seu uso é recomendado para problemas digestivos, cicatrização, aumento da diurese e fortalecimento do sistema imune (MINAMI et al., 2007; KWEE e NIEMEYER, 2011). Os compostos fenólicos presentes na planta possuem alta ação antioxidante (KWEE e NIEMEYER, 2011).

No entanto, é necessária uma caracterização nutricional e de compostos bioativos mais completa dessa erva, visto que essas informações são escassas na literatura, sendo maior o foco na sua capacidade antioxidante (SILVA, 2011).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar a ocorrência e a concentração de macronutrientes, fibras, carotenoides, micronutrientes (vitaminas e minerais), flavonoides, compostos fenólicos e capacidade antioxidante do manjeriço na forma fresca, desidratada e suas infusões quente e gelada.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Coleta e preparação das amostras**

Foram coletados aleatoriamente de 200 gramas a 400 gramas de manjeriço (Figura 1) em uma feira e com dois agricultores da cidade de Viçosa, Minas Gerais, entre os meses de Janeiro a Maio de 2017. As amostras foram identificadas, embaladas em sacos plásticos, envolvidas em papel alumínio, colocadas em caixa de isopor e transportadas para Laboratório de Análises de Vitaminas (LAV) do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (DNS-UFV).

Foram selecionadas as folhas, lavadas em água corrente e secas com auxílio de papel toalha. Em seguida foram protegidas da luz e armazenadas em geladeira ( $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), até o momento das análises de umidade, carotenoides, vitaminas e flavonoides, que ocorreram entre 1 e 2 dias da erva fresca e desidratada. Para análise de macronutrientes, fibras e minerais, as ervas desidratadas foram protegidas da luz e armazenadas em freezer ( $-18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) até o momento da análise nos laboratórios de Análise de Alimentos, Experimental (Departamento de Nutrição e Saúde) e Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizantes (Departamento de Solos - UFV-MG), respectivamente.

A erva que seria utilizada desidratada, imediatamente após chegar ao LAV e ser higienizada, conforme procedimento acima, passou por processo de secagem em estufa (Quimis, Q320 M model, Brazil) a  $80^{\circ}\text{C}$  por 3 horas e foi armazenada em freezer até o momento das análises.



**Figura 1:** Representação fotográfica do manjericão (*Ocimum basilicum L.*), utilizando no presente estudo.

Fonte: Google imagens

## **2.2. Preparação dos chás**

A extração a quente foi realizada de acordo com a metodologia de Zielinski et al. (2014). Dois gramas de amostra foram colocada em 100 mL de água destilada a 80°C, deixando sob agitação magnética durante 7,5 minutos.

A extração em água gelada foi realizada com 2,0 gramas de amostra em 100 mL de água destilada, em temperatura de 7 a 10°C, em imersão por cerca de 15 minutos, sob agitação magnética (ZIELINSKI, et al., 2014).

Todos os extratos foram filtrados em papel filtro quantitativo 125 milímetros (Unifil) e deixados no freezer a -18°C ± 1°C até análise. A partir deste material, foi retirada uma alíquota para análise.

## **2.3. Determinação da Composição Centesimal**

Foram determinados, em triplicata, umidade, cinzas, proteínas e lipídios, de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists* e fibra alimentar (total, solúvel e insolúvel), pelo *Official Methods of Analysis of AOAC Internacional* (2012) em duplicata.

A umidade foi determinada usando estufa com circulação forçada de ar (Nova Ética, modelo 400 / 6ND, São Paulo, Brasil) a 105°C e as cinzas foram quantificadas usando um forno de mufla (Quimis, modelo Q320 M, Brasil) a 550°C. Os carboidratos foram calculados por diferença, por meio da seguinte equação: [100 - (% de umidade +% de lipídios +% de proteínas +% fibra dietética total +% de cinzas)]. O valor energético total do manjericão foi estimado

considerando os fatores de conversão de 4 kcal/g para proteína ou carboidratos e 9 kcal/g por lipídios.

#### **2.4. Extração e análise de carotenoides**

Os carotenoides (luteína e beta-caroteno) foram extraídos segundo o método de Rodriguez-Amaya (2001), com adaptações.

Para extração dos carotenoides do manjericão, foram pesados 2,5 gramas de amostra desidratada e 5 gramas da amostra fresca, as quais foram homogeneizadas em 15 mL de acetona resfriada, com o auxílio de um microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) por 5 minutos. A suspensão obtida foi filtrada a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. Em seguida, o procedimento de extração foi repetido por mais duas vezes adicionando-se 15 mL de acetona resfriada ao resíduo, com posterior homogeneização e filtração a vácuo (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Em seguida, foi realizada a partição dos carotenoides da acetona para o éter de petróleo. O filtrado foi transferido, em três frações, para um funil de separação contendo 50 mL de éter de petróleo resfriado. Após a transferência de cada fração, adicionaram-se aproximadamente 100 mL de água destilada, repetindo-se o processo por três vezes, para a separação de fases (carotenoides - éter de petróleo e acetona-água), sendo a fase inferior (acetona-água) descartada. Acrescentou-se sulfato de sódio anidro ao extrato etéreo para remoção de qualquer resíduo de água. Posteriormente, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Tecnal, TE-211) a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , transferido para um balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume completado com éter de petróleo e armazenados em frasco âmbar no freezer ( $-18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Pipetaram-se 5 ml da amostra em béquer âmbar e este volume foi evaporado em nitrogênio, retomando-se em 2 mL de acetona grau HPLC e, em seguida, filtrado em unidades filtrantes (0,45  $\mu\text{m}$ , Millipore, Brasil), sendo injetados 30  $\mu\text{L}$  na coluna cromatográfica.

Para extração dos carotenoides dos chás, dois gramas de amostra desidratada foram pesadas e destinadas ao preparo dos chás, conforme item 2.3. A infusão foi filtrada em papel de filtro, sendo 20 mL homogeneizados em 20 mL de acetona resfriada, com o auxílio de um microtritador (IKA® T18 basic

Ultra Turrax®) por 5 minutos. O volume final foi filtrado a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro, não tendo resíduo no tubo de extração e as demais etapas procedeu-se da mesma forma que nas ervas, conforme adaptado de Rodriguez-Amaya, (2001).

As análises de carotenoides ocorreram conforme o proposto por Pinheiro-Sant'Ana et al. (1998), incluindo sistema CLAE- DAD, (Shimadzu, SPD-M10A, Japão); coluna cromatográfica Phenomenex Gemini (250 x 4,6 mm i.d., 5 µm), munida de coluna de guarda Phenomenex ODS (C18) (4mm x 3mm), fase móvel composta por metanol: acetato de etila: acetonitrila (80:10:10); eluição isocrática; fluxo da fase móvel de 2,0 mL/min. O tempo de corrida foi de 12 min e os cromatogramas foram obtidos em comprimento de onda de 450 nm.

A identificação dos carotenoides foi realizada pela comparação dos tempos de retenção de padrões autênticos (Aldrich®, Alemanha) e dos picos de interesse nas amostras e pelos espectros de absorção dos padrões e dos picos de interesse das amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando curvas analíticas construídas a partir da injeção, de seis diferentes concentrações de soluções padrão (equação: β- caroteno  $y = 7.226.117,93x + 6.568,38$ ,  $R^2 = 1,00$  e luteína  $y = 3.549.000,7x + 294.805,76$ ,  $R^2 = 1,00$ ). Os carotenoides foram expressos em  $\text{mg.}100\text{g}^{-1}$  de amostra, como componentes isolados e como soma de carotenoides.

## **2.5. Extração e análise de vitamina C**

As condições utilizadas para extração e análise de vitamina C, na forma de ácido ascórbico (AA), foram as otimizadas por Campos et al. (2009).

Para extração de vitamina C na erva foram pesados 2,5 gramas de erva desidratada e 5 gramas de erva fresca, aos quais foram adicionados 15 mL de solução extratora (ácido metafosfórico 3%, ácido acético 8%, ácido sulfúrico 0,3 N e EDTA 1 mM). A mistura foi homogeneizada em microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) durante 5 minutos. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas (Nuve® NF 1200R Bench-Top Centrifuge) a 2349 g por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e filtrado a vácuo em funil de Büchner com

papel de filtro. Em seguida este filtrado foi transferido para um balão volumétrico, sendo o volume completado para 25 mL com água ultrapura.

Para extração de vitamina C dos chás, a infusão foi preparada de acordo com o item 2.3. Em seguida, a infusão foi filtrada em papel de filtro, sendo 20 mL desta adicionados de 15 mL da solução extratora, procedendo-se as mesmas etapas da extração proposta por Campos et. al. (2009).

Para análise do AA, as condições cromatográficas utilizadas foram: sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD) (Shimadzu, SPD-M10A, Japão); coluna cromatográfica RP-18 Synergy Hidro 100, 250 x 4,6 mm, 5 µm, munida de coluna de guarda (C 18,4 mm x 3 mm); fase móvel composta por 1 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM EDTA, pH ajustado a 3,00 com ácido fosfórico e fluxo de 1,0 mL/minuto. O tempo de corrida foi de aproximadamente 7 minutos e o volume de injeção de 100 a 300 µL. Os cromatogramas foram obtidos em comprimento de onda de 245 nm.

A identificação do AA foi realizada pela comparação entre os tempos de retenção de padrão autêntico (Proquímios®, Brasil) e do pico de interesse nas amostras e pelos espectros de absorção dos padrões e picos de interesse das amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando curva analítica construída pela injeção, em duplicata, de uma solução padrão de concentração conhecida, com cinco injeções, com variação no volume (equação:  $y = 2.055.977,81x - 69.549,76$   $R^2 = 1,00$ ). A concentração de vitamina C foi expressa em mg.100g<sup>-1</sup>.

## **2.6. Extração e análise de vitamina E**

A extração e análise dos componentes da vitamina E (α, β, γ e δ-tocoferóis e tocotrienóis) foram realizadas apenas na erva fresca e desidratada. O método baseou-se em Pinheiro-Sant'Ana et al. (2011), com algumas modificações. Dez gramas de amostra fresca e 5 gramas da amostra seca foram adicionados de 4 mL de água ultrapura aquecida (80 ± 1°C), 10 mL de isopropanol, 1 mL de hexano contendo 0,05% de BHT, 5 g de sulfato de sódio anidro e 25 mL da mistura solvente de extração (hexano: acetato de etila, 85:15, v/v). Posteriormente, a suspensão foi homogeneizada utilizando-se microtritador

(IKA T 18® Ultra Turbax), durante 1 minuto. Em seguida, a suspensão foi filtrada a vácuo em funil de Büchner utilizando-se papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. A etapa de extração foi repetida, adicionando-se ao resíduo 5 mL de isopropanol e 30 mL da mistura solvente de extração, com posterior homogeneização por 1 minuto. Após, rinsou-se a haste do triturador com 10 mL da solução extratora e realizou-se a filtração a vácuo. Em seguida, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Quimis, modelo 344.1), a  $70 \pm 1^\circ\text{C}$  (2 minutos), transferido para balão volumétrico e o volume completado para 25 mL com mistura solvente de extração.

Após a extração, alíquotas de 5 mL do extrato foram secas em nitrogênio gasoso, redissolvidas em 2 mL de hexano grau HPLC e filtradas utilizando-se unidades filtrantes de porosidade  $0,45 \mu\text{m}$  (Millipore, Brasil).

As análises de vitamina E na erva foi realizada injetando-se 1 e 10  $\mu\text{L}$  dos extratos. As condições cromatográficas utilizadas incluíram: sistema CLAE (Shimadzu, SCL 10AD VP); detector de fluorescência (290 nm de excitação e 330 nm de emissão); coluna cromatográfica Phenomenex Luna Si100 (250 x 4,6 mm,  $5 \mu\text{m}$ ) acoplada de coluna de guarda Phenomenex Si100 (4 x 3 mm); fase móvel – hexano: isopropanol: ácido acético glacial (98,9: 0,6: 0,5, v/v/v); fluxo da fase móvel de 1,0 mL/min e tempo de corrida de aproximadamente 21 minutos.

A identificação dos componentes da vitamina E foi realizada comparando-se o tempo de retenção dos padrões autênticos (Calbiochem, EMD Biosciences Inc. EUA), e dos componentes de interesse nas amostras, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa por meio da comparação das áreas dos picos com aquelas obtidas nas curvas analíticas construídas a partir da injeção, em duplicata, de seis diferentes concentrações de soluções dos padrões comerciais autênticos (Calbiochem, Canadá). As concentrações de vitamina E foram expressas em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , como componentes isolados e como vitamina E total (soma dos componentes da vitamina E encontrados nas amostras).

## **2.7. Extração e análise de flavonoides**

Foi investigado no manjeriço as flavonas (luteolina e apigenina) e flavanonas (naringenina e eriodictiol).

Para a extração, pesaram-se 2,5 gramas da erva desidratada e fresca, sendo adicionados de 10 mL de metanol/HCl a 1% (v:v); após, procedeu-se a agitação em banho metabólico (Marconi, MA231, Brasil) por 2 horas, a 180 rpm. Em seguida, a suspensão foi centrifugada (Nuve® NF 1200R Bench-Top Centrifuge) a 2349 g, por 5 minutos, sendo o sobrenadante coletado e seu volume completado para 20 mL com metanol acidificado. Posteriormente, o extrato foi acondicionado em frasco âmbar e armazenado em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) até análise (DYKES et al., 2009), que ocorreu no mesmo dia.

A concentração dos flavonoides foi analisada simultaneamente na erva aromática por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O método proposto por Yang et al. (2012) e modificado por Cardoso et al. (2014) foi utilizado para identificar e quantificar os flavonoides no manjeriço. As análises foram realizadas em um sistema CLAE equipado com detector de arranjos de diodos (DAD) (Shimadzu, SPD-M10A, Japão), bomba quaternária para gradiente de alta pressão (Shimadzu, LC-10AT VP, Japão), auto-injetor com loop de 500  $\mu\text{L}$  (Shimadzu, SIL-10AF, Japão), e sistema de degasamento da fase móvel com gás hélio (Shimadzu, DGU-2 A, Japão).

As condições cromatográficas utilizadas incluíram coluna C-18 Kinetex (150 mm x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) equipada com coluna de guarda C-18 (4 mm x 3 mm) (Phenomenex, Torrance, CA), temperatura da coluna a 35  $^\circ\text{C}$ , volume de injeção de 15 a 30  $\mu\text{L}$ , varredura do espectro de 200 a 700 nm, com detecção a 360 nm para flavonas e 280 nm para flavanonas. A fase móvel foi composta de 2% de ácido fórmico em água ultrapura (linha A) e 2% de ácido fórmico em acetonitrila (linha B). O gradiente de eluição para B foi o seguinte: 0-3 minutos, 10% isocrático; 3-4 minutos, 10-12%; 4-5 minutos, 12% isocrático; 5-8 minutos, 12-18%; 8-10 minutos, 18% isocrático; 10-12 minutos, 18-19%; 12-14 minutos, 19% isocrático; 14-18 minutos, 19-21%; 18-22 minutos, 21-26%; 22-28 minutos, 26-28%; 28-32 minutos, 28-40%; 32-34 minutos, 40-60%; 34-36 minutos, 60% isocrático; 36-38 minutos, 60-10%; 38-45 minutos, 10% isocrático. A fase móvel foi desgaseificada com gás hélio (50 kPa) durante as corridas, utilizando o seguinte gradiente de fluxo: 0-36 minutos, 1,0 mL/minuto; 36-38 minutos, 1,0-2,0 mL/minuto; 38-44 minutos, 1,0 mL/minuto; 44-45 minutos, 1,0-2,0 mL/minuto.

A identificação dos flavonoides foi realizada pela comparação entre os tempos de retenção de padrões autênticos e dos picos de interesse nas

amostras e entre os espectros de absorção dos padrões e picos de interesse nas amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação de cada composto foi realizada por padronização externa, utilizando curvas analíticas construídas pela injeção, em duplicata, de cinco diferentes concentrações de soluções padrão, os compostos foram expressos em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de amostra, como componentes isolados e como soma de flavonoides.

## **2.8. Determinação de compostos fenólicos totais**

Para extração dos compostos fenólicos da erva utilizou-se 1 grama das erva fresca e desidratada, as quais foram adicionadas de 20 mL de solução metanólica a 60%. Em seguida, a suspensão foi agitada a 180 rpm (2 horas) e centrifugada a 2790 *g* (15 minutos). O sobrenadante foi completado para 20 mL com a solução metanólica, transferido para um frasco âmbar e armazenado em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) até o momento da análise.

Para extração dos compostos fenólicos nos chás, as infusões foram preparadas conforme item 2.3. Em seguida, uma amostra de 10 mL foi adicionada de 15 mL de solução metanólica a 60%. Em seguida, a suspensão foi agitada a 180 rpm (2 horas) e centrifugada a 2790 *g* (15 minutos). Quando necessário, a solução foi avolumada para 20 mL com a solução metanólica, transferida para um frasco âmbar e armazenada em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) para prosseguir a realização da análise.

O total de compostos fenólicos foi determinado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999). Para análise, 500  $\mu\text{L}$  do extrato foram adicionados de 500  $\mu\text{L}$  de solução de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemanha) a 20% e 500  $\mu\text{L}$  de solução de carbonato de sódio a 7,5%. Em seguida, a solução foi agitada em vórtex (10 segundos) e incubada por 30 minutos em temperatura ambiente e protegida da luz. Realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Evolution 60S, ThermoScientific, EUA) a 765 nm. A quantificação foi realizada utilizando curva analítica construída a partir da leitura da absorbância a 765 nm, de cinco soluções com diferentes concentrações de ácido gálico, em duplicata. Os resultados foram expressos em

miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de amostra (mg.EqAG.100g<sup>-1</sup> de amostra).

## 2.9. Determinação da capacidade antioxidante

A atividade de retirada de radical (ARR) das amostras foi realizada a partir do extrato preparado para a análise de fenólicos totais utilizando o método do radical DPPH (2,2-difenil-2-picril-hidrazil) (BLOOR, 2001). Para tanto, uma alíquota de 2,5 mL do extrato foi adicionada de 1,5 mL de solução metanólica de DPPH (Sigma-Aldrich, Alemanha) 0,1 mM (1,0 mL). Foi realizada a agitação em vórtex; em seguida, o extrato foi deixado em repouso para reagir por 30 minutos ao abrigo da luz. A absorbância foi lida em espectrofotômetro (ThermoScientific, ELISA Multiskan GO) a 517 nm.

A capacidade para eliminar o radical DPPH\* foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$ARR(\%) = 100 \% - [(Abs.amostra - Abs.branco \div Abs.controle) \times 100]$$

Em que:

ARR: Atividade de retirada de radical

Abs.controle: absorbância do controle (solução de DPPH\* sem a amostra);

Abs.amostra: absorbância da amostra-teste (solução de DPPH\* mais a amostra teste);

Abs.branco: absorbância da solução de extração apenas, sem amostra ou solução de DPPH\*.

## 2.10. Determinação de Minerais

Para análise e determinação de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Ni, Cd Pb e Al, utilizou-se a digestão nitroperclórica (Sarruge & Haag, 1974), e as análises foram feitas por espectrofotometria de absorção atômica em plasma indutivamente acoplado (ICP-EAS) (Perkin Elmer, Optima 3300 DV). A determinação de P foi feita por colorimetria pelo método do ácido ascórbico (Braga & Defelipo, 1974); a determinação de K foi realizada por fotometria de chama; a determinação de S foi realizada por turbidimetria de acordo com método de Alvarez et al. (2001).

### **2.11. Delineamento experimental e análise estatística dos dados**

Trata-se de um estudo transversal, em que as concentrações de nutrientes e de compostos bioativos do manjericão na forma fresca e desidratado e submetido à infusão em água quente e em água gelada foram avaliadas utilizando o delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Os dados foram avaliados quanto à normalidade utilizando o teste de *Shapiro-Wilk*. Em seguida, os dados foram analisados por teste t de Student ou Mann Whitney Utilizou-se o *software* SPSS versão 23.0, adotando-se um nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%.

### **2.12. Avaliação do potencial de contribuição do alecrim e suas infusões para o atendimento das recomendações de vitaminas e minerais**

O potencial de contribuição nutricional das ervas e chás foi estimado com base nas *Recommended Dietary Allowance* (RDA), para adultos com idade entre 18 a 59 anos (IOM, 2001). As porções de ervas foram calculadas de acordo com quantidades usualmente consumidas/comercializadas. A contribuição nutricional se baseou em embalagens de ervas desidratadas comercializadas em mercado (5g) e o indicado para preparo de chás na forma de sachês (2g), uma vez que não existe na literatura recomendação de porções para ervas.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1. Composição Centesimal do manjericão**

No presente estudo, o manjericão fresco coletado no município de Viçosa, Minas Gerais apresentou 94,12% de umidade, concentração superior à observada por Ferreira e Silveira Junior (1999) em manjericão coletado em Campinas, SP, Brasil (72,39%) e Reis et. al. (2012) (82,7%), em manjericão encontrado em Anápolis, Goiás, Brasil.

A concentração de cinzas foi de 7,9 g.100g<sup>-1</sup>, coincidindo com o relatado por Almeida et. al. (2010) em amostras de alecrim seco coletadas em Juiz de Fora e Ubá, Minas Gerais (5,93 a 8,46 g.100g<sup>-1</sup>) e também por Bertol et al. (2015), em que as concentrações de cinzas em barbatimão, carqueja e quebra-pedra variaram de 1,64 a 8,44 g.100g<sup>-1</sup>.

Em relação aos macronutrientes, não foram encontrados estudos que discriminassem as quantidades nessa erva. No presente estudo, o manjeriço apresentou baixa concentração de proteína ( $0,23 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  da erva desidratada). Um estudo recente, realizado por Pedro et al. (2016), mostrou maiores concentrações de proteínas no barbatimão ( $5,44 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), carqueja ( $8,62 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), quebra-pedra ( $9,35 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) e mangava brava ( $2,36 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ). O manjeriço do presente estudo apresentou  $0,20 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  de lipídios, próximo ao relatado por Pedro et al. (2016) nas 4 ervas analisadas.

A concentração de carboidratos do manjeriço foi de  $5,25 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , próximo ao relatado para manjeriço (3,6 g) na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011).

O manjeriço em nosso estudo apresentou 1,15 Kcal na porção de 5 g de erva, semelhante ao encontrado na TACO (2011), 1,05 Kcal. Dessa forma, é considerado um alimento de baixo valor calórico e sua ingestão não se mostra significativa para o consumo energético diário.

O manjeriço apresentou fibras totais ( $2,33 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), insolúvel ( $1,69 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) e solúvel ( $0,64 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ). De acordo com as recomendações nutricionais, a quantidade diária de fibra ingerida deve ser de aproximadamente de 30 g para adultos (IOM, 2005). Considerando-se o consumo de 5g de manjeriço desidratado por dia, quantidade usualmente comercializada em pacotes, utilizada como tempero em preparações alimentares, sua contribuição é muito baixa (0,4%), não sendo fonte de fibras.

Os diferentes valores da composição centesimal encontrados entre as plantas podem estar relacionados à origem, às variedades das ervas analisadas e às diferentes estruturas vegetais das plantas (BERTOL et al., 2015).

### **3.2. Carotenoides, vitamina C e vitamina E no manjeriço**

A análise qualitativa indicou a presença dos seguintes componentes no manjeriço fresco:  $\beta$ -caroteno (tempo de retenção - RT = 10 min); luteína (RT = 3,5 min); ácido ascórbico (RT = 4 min);  $\alpha$ -tocoferol (RT = 7,5 min);  $\beta$ -tocoferol (RT = 12,5 min) e  $\alpha$ -tocotrienol (RT = 14 min). Na erva desidratada observou-se a presença de  $\beta$ -caroteno (RT = 10,5 min); luteína (RT = 4 min); ácido ascórbico (RT = 4,5 min);  $\alpha$ -tocoferol (RT = 6,5 min) (Figura 2).

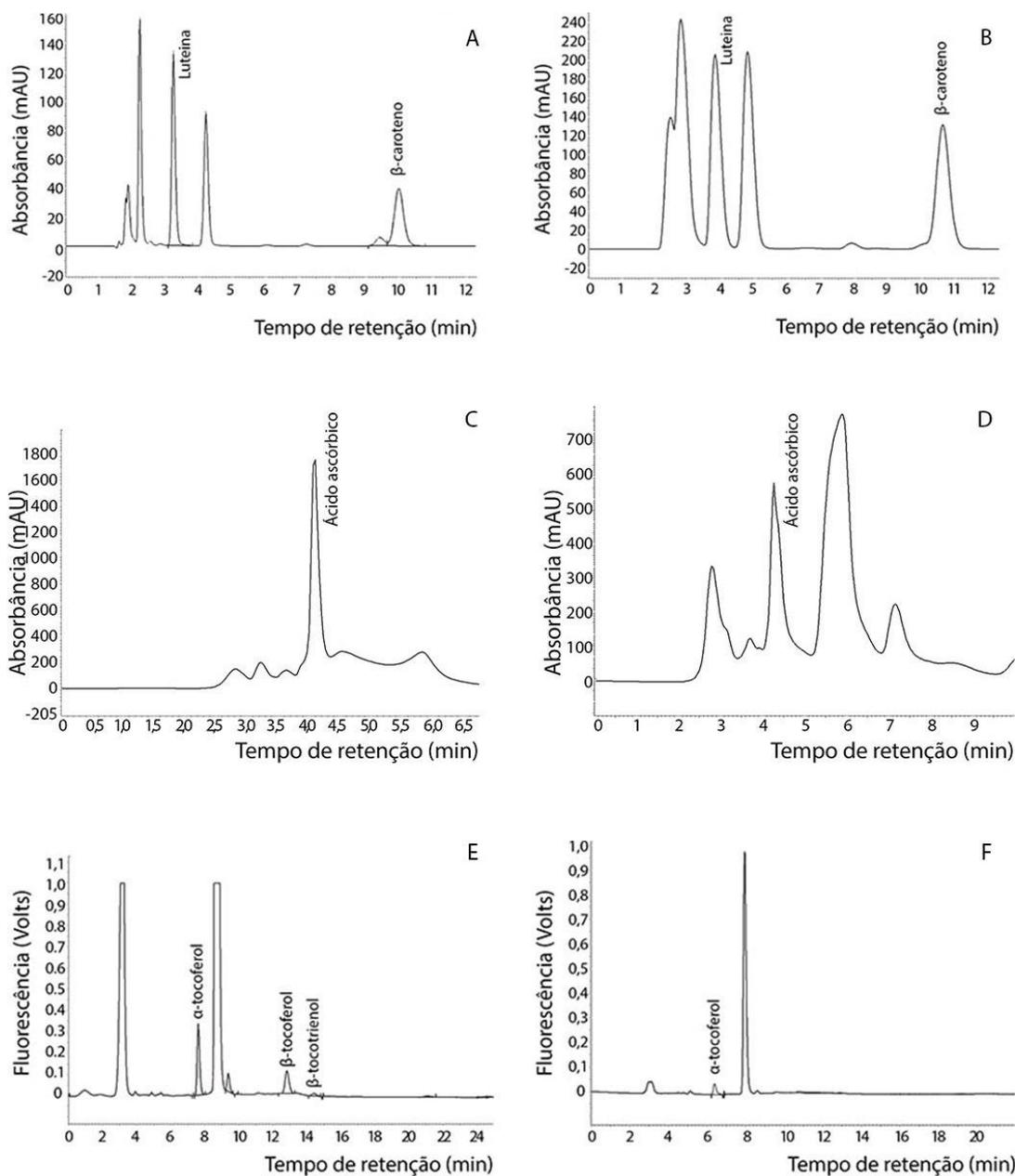
Em nosso estudo, o  $\beta$ -caroteno foi encontrado em menor concentração que a luteína no manjericão fresco e desidratado. A retenção do  $\beta$ -caroteno foi em torno de 100% no manjericão desidratado, mostrando que o composto foi preservado após o aquecimento ou que a temperatura pode ter promovido uma maior extração do componente e conseqüentemente aumentar sua concentração ou pode ter ocorrido isomerização de compostos, alteração da forma cis e trans, alterando a estrutura molecular, podendo levar a transformação de um composto em outro e o tornando mais biodisponível.

As moléculas de carotenoides são susceptíveis à oxidação durante o processamento de alimentos, porém a biodisponibilidade pode ser melhorada, resultado da dissociação ou enfraquecimento da complexidade da ligação entre os carotenoides e a matriz das células de vegetais (SAUNDERS et al., 2000). Os isômeros cis são menos estáveis termodinamicamente que a forma trans. A maior parte dos carotenoides ocorrem na natureza na forma todo-trans. O calor, ácidos, luz, oxigênio, cocção, desidratação, trituração e enzimas provocam alteração, resultando em formação de isômeros cis (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2004).

Não houve diferença significativa ( $p > 0.05$ ) entre as concentrações de luteína da erva fresca e desidratada; entretanto observou-se uma redução importante na concentração após a desidratação, com retenção de apenas 14,6%.

Observamos que a concentração de  $\beta$ - caroteno no manjericão fresco foi similar ao relatado por Pereira e Angelis-Pereira (2013) em salsa e sálvia. Já a concentração de luteína foi maior no manjericão fresco, quando comparando a sálvia ( $6,35 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) e salsa ( $8,30 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) frescas, respectivamente. Porém, não foram encontrados estudos com o manjericão dificultando a comparação dos resultados.

Os alimentos vegetais em geral são uma das principais fontes de carotenoides, e sua ingestão frequente e em quantidades suficientes auxilia na prevenção de diversas doenças como câncer, doenças cardiovasculares, dislipidemias, dentre outras. Tais compostos tem sido alvo de diversas pesquisas (TREJO-SOLÍS et al., 2013; LENNIE et al., 2013).



**Figura 2.** Análise por CLAE de carotenoides em manjeriço fresco (A) e desidratado (B); ácido ascórbico em manjeriço fresco (C) e desidratado (D); vitamina E em manjeriço fresco (E) e desidratado (F).

As concentrações de vitamina C e vitamina E total no manjeriço fresco e desidratado não diferiram ( $p > 0,05$ ), porém observa-se que a erva desidratada uma concentração mais baixa e baixa retenção destas vitaminas (19,60% e 3,76%, respectivamente), indicando perdas expressivas após a desidratação. A retenção do  $\alpha$ -tocotrienol foi superior a 50% (Tabela 1).

**Tabela 1:** Concentração de carotenoides, vitamina C e vitamina E no manjericão fresco e desidratado

<b>Compostos</b>	<b>Erva fresca</b>	<b>Erva desidratada</b>	<b>Retenção Real (%)*</b>
<i>Vitamina C (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	4,01±2,76 <sup>a</sup>	3,93±1,12 <sup>a</sup>	19,60
<i>Carotenoides (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
β-Caroteno	3,72±2,11 <sup>b</sup>	18,83±7,80 <sup>a</sup>	101,24
Luteína	73,41±73,67 <sup>a</sup>	53,54±35,12 <sup>a</sup>	14,60
<i>Soma de Carotenoides (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	34,73±16,35	60,27±42,01	18,77
<i>Valor de vitamina A (RAE.100g<sup>-1</sup>)</i>	310,00	1569,16	-
<i>Vitamina E (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
α-Tocoferol	3,75±2,49 <sup>a</sup>	1,18±0,94 <sup>a</sup>	6,30
α-Tocotrienol	0,72±0,70 <sup>a</sup>	1,91±0,84 <sup>a</sup>	53,05
β-Tocoferol	0,05±0,0042 <sup>a</sup>	nd	0
β-Tocotrienol	9,64±3,96 <sup>a</sup>	nd	0
γ-Tocoferol	nd	nd	0
γ-Tocotrienol	nd	nd	-
<i>Soma de vitamina E (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	19,51±9,37	1,68±0,33	3,76

Dados expressos em base fresca e seca como média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para cada composto, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo Teste t. nd: não determinado;

\*Retenção Real (%RR): Calculado de acordo com a fórmula de Murphy, Criner e Gray (1975) - % RR =  $\frac{\text{concentração do composto na erva processada} \times \text{peso (g) da erva processada}}{\text{Concentração do composto na erva antes do processamento} \times \text{peso (g) da erva antes do processamento}} \times 100$

A vitamina C é essencial para a formação das fibras colágenas em praticamente todos os tecidos do corpo humano e contribui para a integridade das paredes dos vasos sanguíneos (derme, cartilagem e ossos) (MANELA - AZULAY, et al., 2003).

O teor de vitamina C e E nos alimentos sofre interferência de vários fatores, como colheita, condições de cultivo, características do solo, condições climáticas, estocagem e processamento dos alimentos (EITENMILLER, 1997).

A literatura aponta que os folhosos são boas fontes de vitamina E, tendo predominância do α-tocoferol, sendo sua concentração mais alta em vegetais verdes-escuros (GUINAZI, 2004). Entretanto, no manjericão predominou o β-tocotrienol na fresca e α-tocotrienol na desidratada.

É importante ressaltar que as informações sobre a concentração de vitamina E em vegetais folhosos, especialmente em ervas e fitoterápicos são muito escassas, sendo esse um diferencial desse estudo. O teor dessa vitamina nos alimentos sofre influência das condições de cultivo e climáticas, características do solo, armazenamento e processamento dos alimentos (EITENMILLER, 1997).

A concentração de carotenoides e vitamina C foram extremamente reduzidas e não diferiram ( $p>0.05$ ) entre as infusões quente e gelada (Tabela 2).

**Tabela 2:** Concentração de carotenoides e vitamina C nas infusões de manjerição quente e gelada

<b>Compostos</b>	<b>Infusão Gelada</b>	<b>Infusão quente</b>
<i>Vitamina C (mg.100mL<sup>-1</sup>)</i>	0,546±0,564 <sup>a</sup>	0,164±0,050 <sup>a</sup>
<i>Carotenoides (mg.100mL<sup>-1</sup>)</i>		
β-Caroteno	0,001±0,000 <sup>a</sup>	0,013±0,016 <sup>a</sup>
Luteína	0,029±0,00 <sup>a</sup>	0,114±0,12 <sup>a</sup>
<i>Valor de vitamina A (µg.100g<sup>-1</sup>)</i>	0,083	1,08

Dados expressos em base fresca como média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para cada composto, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste t.

### **3.3. Concentração de minerais e metais pesados no manjerição**

O potássio foi o mineral encontrado em maior concentração no manjerição desidratado (4170 mg.100g<sup>-1</sup>), seguido do cálcio (1786,67 mg.100g<sup>-1</sup>), enquanto o cromo foi o mineral presente em menor quantidade (0,12 mg.100g<sup>-1</sup>).

A concentração de potássio no manjerição do presente estudo foi mais alta que a encontrada por Franco et al. (2011) em outras ervas como o chapéu-de-couro (3758,50 mg.100g<sup>-1</sup>), calêndula (2896,65 mg.100g<sup>-1</sup>) e erva-de-são-joão (2553,21 mg.100g<sup>-1</sup>). Destaca-se que o potássio é um mineral presente no fluido intracelular, sendo necessário para o crescimento e manutenção corporal (BEYER, 2012).

De acordo com a literatura, o ferro é um mineral que pode ter sua concentração aumentada devido ao uso de fungicidas, pesticidas e herbicidas (HE et al. 2005). No manjerição observou-se uma concentração maior desse

mineral (50,65 mg.100g<sup>-1</sup>), do que o relatado em outras plantas estudadas por Franco et. al. (2011) como chapéu de couro (36,78 mg.100g<sup>-1</sup>), calêndula (23,89 mg.100g<sup>-1</sup>) e erva-de-são-joão (24,59 mg.100g<sup>-1</sup>) de ferro.

O manjeriço também se destacou em relação às concentrações de cálcio, fósforo e cobre (1786,67, 356,67 e 0,98 mg.100g<sup>-1</sup>, respectivamente) (Tabela 3), quando comparado com erva mate, de acordo com o estudo de Heinrichs e Malavolta (2001) que encontraram 630,00 mg.100g<sup>-1</sup> de cálcio, 90,00 mg .100g<sup>-1</sup> de fósforo e 0,89 mg.100g<sup>-1</sup> de cobre.

A maioria dos alimentos e plantas possui baixa concentração de manganês, de acordo com Heinrichs e Malavolta (2001), relatando que a erva-mate é uma importante fonte desse mineral (88,00 mg.100g<sup>-1</sup>), diferentemente do manjeriço que apresentou concentração muito mais baixa (2,95 mg.100g<sup>-1</sup>). Bertol, Almeida e Almeida (2015), investigando minerais em *Zingiber officinale* (Gengibre), *Equisetum giganteum* L. (Cavalinha), *Mentha piperita* L. (hortelã) e *Salvia officinalis* (Sálvia) no Oeste de Santa Catarina, SC, afirmam que as plantas apresentaram quantidades satisfatórias de K, Cu, Zn, Ca e Fe, podendo ser usadas como complemento alimentar, assim como observado no manjeriço.

A concentração de minerais em plantas é variável e depende de uma série de fatores como a variedade, a espécie, tipo de solo, condições climáticas, uso de fertilizantes e fertilidade do solo (SANCHEZ-CASTILLO et al., 1998).

O uso de fertilizantes e agrotóxicos, atividades urbano-industriais, tipo de irrigação e adubação são pontos relevantes que interferem no acúmulo de elementos traços nos solos, podendo ocasionar contaminação dos alimentos com elementos tóxicos, além de aumentar a biodisponibilidade desses minerais devido às alterações químicas (HE et al., 2005).

Em nosso estudo foi encontrado 0,41 mg.100g<sup>-1</sup> de chumbo no manjeriço desidratado. Esse é o contaminante ambiental mais comum, podendo ser absorvido pelo organismo por via inalatória ou oral (BRUNKEN et al., 2002; OLGA, 2003). A RDC nº 42 de 29/08/2013, que dispõe sobre o regulamento técnico do Mercosul em relação aos limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, determina que em chás, erva mate e outras ervas para infusão, o limite para chumbo é 0,60 mg.kg<sup>-1</sup>, estando o manjeriço sete vezes acima do recomendado (4,10 mg.100 kg<sup>-1</sup>).

**Tabela 3:** Concentração de minerais e metais pesados no manjericão desidratado.

<b>Minerais</b>	<b>Concentração (mg.100<sup>-1</sup>)</b>
Fósforo (P)	356,67±20,82
Potássio (K)	4170,00±181,93
Cálcio (Ca)	1786,67±47,26
Magnésio (Mg)	243,33±5,77
Enxofre (S)	166,67±5,77
Cobre (Cu)	0,98±0,02
Ferro (Fe)	50,65±0,78
Zinco (Zn)	3,84±0,15
Manganês (Mn)	2,95±0,15
Sódio (Na)	25,33±5,51
Cromo (Cr)	0,12±0,01
<b>Metais pesados</b>	
Cádmio (Cd)	nd
Níquel (Ni)	nd
Chumbo (Pb)	0,41±0
Alumínio (Al)	864,11±10,25

\*Dados expressos em matéria seca; média de 3 repetições ± desvio padrão. nd = não detectado

Os níveis de metais pesados no solo podem aumentar em virtude de intensas atividades de mineração no estado de Minas Gerais, trazendo toneladas de resíduos para o meio ambiente. Concentrações consideráveis de elementos tóxicos podem penetrar no solo, águas subterrâneas e rios, conseqüentemente colocando em risco a saúde e o ambiente, não só nas áreas circundantes, mas também na ictiofauna e em áreas mais distantes de pecuária e atividades agrícolas. Por meio das inundações na bacia do Rio Das Velhas, na região mineira, a água e os sedimentos contaminados com metais pesados e elementos tóxicos transportam contaminação para os rios e região agrícola a uma distância de cerca de 400 km (VEADO, et al., 2006).

Não foi observada contaminação no manjericão com níquel (Ni) e cádmio (Cd), o que é importante, uma vez que esses também são considerados tóxicos. Na investigação desses metais em camomila, carqueja, calêndula, chapéu-de-couro, erva-de-são-joão e pata-de-vaca, os mesmos também não foram encontrados (FRANCO et. al., 2011).

Em relação ao alumínio (Al), em 100 g da erva desidratada foram encontrados 864,11 mg. De acordo com Soliman e Zikovsky, (1999) a ingestão

dietética de Al não deveria exceder 6 mg/dia. Dessa forma, o consumo diário de manjeriço, mesmo em pequena quantidade (1g), ultrapassa a recomendação (8,64 mg.1g<sup>-1</sup>), podendo gerar efeitos no crescimento, reprodução, tecido ósseo e cerebral (NATESAN e RANGANATHAN, 1990). Essa concentração se mostrou muito maior do que a relatada por Heinrichs e Malavolta (2001) em erva mate (0,43 mg.1g<sup>-1</sup>). Sabe-se que o acúmulo de alumínio em plantas parece ser maior e mais expressivo em solos ácidos (Tyler, 1994). Peris et al. (2007) afirmaram que a elevada salinidade de alguns solos pode facilitar a mobilidade de metais pesados, além do alto percentual de matéria orgânica (>2%) e presença de carbonatos (11 a 60%) aumentarem a retenção destes nos alimentos e plantas.

Entretanto, Oliveira et al.(2005) relatam que a ingestão de alumínio é elevada e que a dieta habitual fornece cerca de 5 a 10 mg desse elemento tóxico diariamente; contudo, grande fração é eliminada via gastrointestinal e pequena fração reabsorvida é eliminada pelos rins

### **3.4. Flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante no manjeriço e suas infusões**

A concentração de flavonoides encontrada no manjeriço fresco e desidratado diferiu significativamente ( $p < 0.05$ ) apenas para eridictiol, sendo maior na erva desidratada (Tabela 4). No entanto, após a desidratação, ocorreu uma perda elevada dos flavonoides totais (20,70% de retenção), possivelmente acarretada pelo processo de aquecimento. De acordo com Oliveira (2015), a temperatura e tempo de armazenamento são importantes fatores relacionados à preservação dos flavonoides e propriedades funcionais durante a vida de prateleira do alimento, podendo esses fatores levar a perda de flavonas e flavanonas devido a menor estabilidade desses componentes e consequentemente baixa retenção ao passar pelo processo de aquecimento.

Luteolina e naringenina foram os flavonoides encontrados em quantidade mais expressiva no manjeriço fresco e desidratado. Em nosso estudo a concentração de flavonoides totais em manjeriço fresco e desidratado foi bem inferior ao relatado por Silva (2011) com método de extração diferente de nosso estudo, em manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) (1,487,00 mg.100g<sup>-1</sup>) e manjerona (*Origanum majorana* L) (736,00 mg.100g<sup>-1</sup>) em extratos hidroalcológicos das ervas frescas, coletadas em Pato Branco, PR e superior ao encontrado por

Genovese et al. (2011) em manjerição seco coletado em São Paulo, SP (86,50 mg.100g<sup>-1</sup>). No entanto, a comparação entre diferentes estudos da concentração flavonoides totais, assim como a de carotenoides totais e vitamina E total   difícil porque, na maioria das vezes, as pesquisas não investigam a presença de todos os compostos.

Os flavonoides são comumente encontrados em ervas e especiarias, agindo como potentes antioxidantes, quelantes de metais e sequestradores de radicais livres (JAYASHINGHE et al., 2003). São compostos benéficos a saúde, tendo destaque sua capacidade de reduzir a proliferação, diferenciação e aumentar a apoptose de células cancerígenas (ARAÚJO et al., 2010).

**Tabela 4:** Concentração de flavonoides, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante no manjeriço fresco e desidratado

<b>Compostos</b>	<b>Erva fresca</b>	<b>Erva desidratada</b>	<b>Retenção Real (%)*</b>
<i>Flavonas (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
Luteolina	132,00±64,40 <sup>a</sup>	65,80±72,20 <sup>a</sup>	9,92
Apigenina	19,00±6,00 <sup>a</sup>	20,70±18,40 <sup>a</sup>	21,12
<i>Flavanonas (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
Eriodictiol	10,04±3,19 <sup>b</sup>	64,78±10,63 <sup>a</sup>	129,04
Naringenina	50,46±35,00 <sup>a</sup>	67,96±20,02 <sup>a</sup>	26,94
<i>Flavonoides Totais (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	1,19±0,22	1,26±1,03	
<i>Fenólicos totais (mg.GAE.100g<sup>-1</sup>)</i>	49,53±21,64 <sup>a</sup>	55,62±23,76 <sup>a</sup>	22,46
<i>%AAR</i>	41,15±7,27 <sup>a</sup>	49,03±20,80 <sup>a</sup>	-

Dados expressos em base fresca como média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para cada componente, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste t.

%AAR: atividade de retirada de radical

\*Retenção Real (%RR): Calculado de acordo com a fórmula de Murphy, Criner e Gray (1975) -  

$$\% RR = \frac{\text{concentração do composto na erva processada} \times \text{peso (g) da erva processada}}{\text{Concentração do composto na erva antes do processamento} \times \text{peso (g) da erva antes do processamento}} \times 100$$

Quanto   concentração de fenólicos totais, neste estudo foram observadas concentrações bem maiores que as encontradas por Silva (2011) em manjeriço (6,35 mg.GAE100g<sup>-1</sup>) e manjerona (4,12 mg.GAE.100g<sup>-1</sup>). Shan et al. (2005) relataram 36,40 mg.GAE.100g<sup>-1</sup> no manjeriço a partir de extratos preparados com uma mistura metanol:  gua (80:20 v/v) e Genovese et al. (2011)

por meio de extratos preparados da mistura metanol: água (70:30 v/v) encontrou 52,50 mg.GAE.100g<sup>-1</sup>, próximo ao nosso estudo. As concentrações de fenólicos totais do manjeriço em nosso estudo não diferiram entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ).

A capacidade antioxidante não diferiu entre o manjeriço fresco e desidratado e nem entre as infusões ( $p > 0,05$ ). De acordo com Gonçalves, Santos e Morais (2015), quando se comparou a capacidade antioxidante pelo método DPPH com extrato aquoso e alcoólico, observou-se diferença para manjeriço no aquoso (73,80%±3,0) e no alcoólico (92,60%± 0,2). Silva (2011) também relata que o manjeriço, analisado pelo mesmo método utilizado no presente estudo (DPPH), apresentou 88,74%, resultado superior ao encontrado em nosso estudo.

Em nosso estudo, a capacidade antioxidante do manjeriço não se mostrou elevada como nos estudos comparados, porém a literatura aponta que muitas ervas e especiarias se destacam pela sua capacidade antioxidante, dentre eles: manjeriço, manjerona, alecrim, anis, camomila, canela, cardamomo, cominho, cravo, erva cidreira, erva-doce, gengibre, louro, menta, salsa, sálvia e tomilho (JAYASINGHE et al., 2003; HINNEBURG et al., 2006; CAROVIĆ-STANKO et al., 2010; WEI e SHIBAMOTO, 2010). Essa diferença na capacidade antioxidante do manjeriço nos estudos pode ser em virtude de diferentes métodos de extração e análises utilizados, além de diferenças no solo, clima e cultivo da planta.

Essas diferenças entre os resultados obtidos nesse estudo e os relatados na literatura pode ser explicada, provavelmente, por diferenças de composição química entre as ervas, especialmente com relação à presença de compostos antioxidantes, bem como pelo emprego de diferentes processos de extração, o que resultaria em extratos com diferentes concentrações destes compostos e, conseqüentemente, com diferentes capacidades antioxidantes.

Nas infusões quente e gelada não foi possível realizar a quantificação dos flavonoides, uma vez que apenas traços dos mesmos foram encontrados impossibilitando a identificação e quantificação dos compostos. Dessa forma, dois fatores podem ter ocorrido: redução drástica da concentração de flavonoides nas infusões ou transferência extremamente reduzida dos flavonoides do manjeriço fresco para as infusões.

A hipótese mais viável, que acreditamos explicar o comportamento dos flavonoides apresentado nos chás, é em relação a baixa transferência da erva para o chá, uma vez que as concentrações de flavonoides podem ser afetadas por diferentes tipos de processamento e fabricação de chás (ZHU et al. 2002; KODOMA et al., 2010).

Não foi observada diferença significativa ( $p > 0.05$ ) em relação à concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante nas infusões dos chás (Tabela 5). A concentração de compostos fenólicos nas infusões foi bem reduzida quando comparada com aquela encontrada no manjericão fresco e desidratado, enquanto que a capacidade antioxidante na infusão quente foi similar à observada na erva.

Em chá preto, a concentração de fenólicos totais, variou de 39,25 a 99,77 mg.mL<sup>-1</sup>, dependendo do tempo de infusão (3 a 10 min.), sendo muito superiores às encontradas na infusão quente e gelada de nosso estudo. A combinação do tempo de infusão e temperatura inicial (tempo de infusão de 10 minutos e temperatura inicial de 85°C) tem sido apontada por alguns autores, como sendo ponto relevante para boa extração de compostos fenólicos em ervas (LIMA et al., 2004; KATALINIC et al., 2006; SU et al., 2006).

Diversos fatores podem interferir na concentração de fenólicos e na capacidade antioxidante de plantas, como o solo, clima, condições fisiológicas da planta para a extração e o tempo de infusão (PEREIRA et al., 2009).

**Tabela 5:** Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante das infusões de manjeriço quente e gelada.

<b>Compostos</b>	<b>Infusão Gelada</b>	<b>Infusão quente</b>
<i>Flavonas (mg.100mL<sup>-1</sup>)</i>		
Luteolina	nd	nd
Apigenina	nd	nd
<i>Flavanonas (mg.100mL<sup>-1</sup>)</i>		
Eriodictiol	nd	nd
Naringenina	nd	nd
<i>Fenólicos totais (mg.GAE.100mL<sup>-1</sup>)<sup>1</sup></i>	2,45±1,20 <sup>a</sup>	3,05±1,00 <sup>a</sup>
<i>%AAR<sup>1</sup></i>	36,35±25,01 <sup>a</sup>	47,61±19,04 <sup>a</sup>

Dados expressos em base fresca como média de 3 repetições ± desvio padrão.

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste t.

nd: não detectado; %AAR: atividade de retirada de radical

### **3.5. Potencial de contribuição do alecrim e suas infusões para o atendimento das recomendações de vitaminas e minerais**

Os alimentos podem ser classificados em fonte, boa fonte ou excelente fonte de acordo com seu potencial de contribuição para determinado nutriente, e, de acordo com Phillipi (2004), os alimentos "fontes" são aqueles que suprem de 5 a 10% das *Dietary Reference Intake* (DRI), "boas fontes" quando suprem de 10 a 20% da DRI e "excelentes fontes", quando atendem mais de 20% da DRI.

Assim, ao se comparar os valores de necessidades diárias de minerais e vitaminas recomendados, uma porção de 5 g/dia de manjeriço desidratado pode contribuir com quantidades significativas de micronutrientes importantes à saúde, facilitando o alcance de recomendações dietéticas de manganês, cálcio e cobre, uma vez que pode ser considerado fonte desses minerais. Uma porção de 5 g de manjeriço fresco pode contribuir com 8,22% das recomendações diárias para vitamina E, sendo considerado também fonte dessa vitamina. Além de fonte de manganês (Tabela 6).

O manjeriço desidratado, na porção comercial de 5 g pode fornecer 10,42% da recomendação de potássio, 18,07% de ferro, 17,14% de cromo e

13,07% de vitamina A da recomendação diária desses micronutrientes, sendo considerado boa fonte.

Inúmeras funções e processos metabólicos no organismo humano são dependentes de concentrações sanguíneas adequadas de minerais. A literatura mostra que a ingestão adequada de elementos como sódio, potássio, magnésio, cálcio, manganês, cobre e zinco reduz fatores de risco para doenças cardiovasculares, dentre elas doenças coronarianas e hipertensão (SANCHEZ-CASTILLO et al., 1998).

A importância e ação dos minerais no organismo para a saúde humana já são bem estabelecidas e conhecidas na literatura. No manjericão, os minerais que se destacaram, contribuindo para uma ingestão adequada foram o potássio, o manganês, o ferro e o cromo. O potássio atua regulando o funcionamento do sistema muscular e os batimentos cardíacos. O manganês exercendo função de cofator enzimático em rotas metabólicas de grande importância e constituinte de metaloenzimas como superóxido dismutase, além de ser essencial para o desenvolvimento da matriz orgânica dos ossos (McDOWELL, 1992). O ferro desempenhando papel essencial no transporte de oxigênio e respiração celular, por atuar como componente das moléculas de hemoglobina, mioglobina, citocromo e de alguns sistemas enzimáticos (OLGA, 2003). E o cromo potencializa os efeitos da insulina, melhorando o metabolismo de carboidratos, reduzindo colesterol plasmático e aumentando a captação de aminoácidos (GOMES, ROGERO, TIRAPEGUI, 2005).

E em relação às infusões quente e gelada (Tabela 6), na porção de 2 g para preparo de 100 mL, a concentração de vitamina C foi baixa, porém um pouco maior que no chá frio, suspostamente devido a estabilidade da vitamina C, que é maior em temperaturas mais baixas (FREITAS et. al., 2006). A concentração de vitamina A nas infusões foram insignificantes, não podendo essas serem consideradas fontes.

**Tabela 6:** Potencial de contribuição do manjericão e suas infusões para o suprimento das recomendações diárias de vitaminas e minerais para homens adultos.

Compostos	Potencial de contribuição (%)			
	Manjericão fresco (porção de 5g)	Manjericão desidratado (porção de 5g)	Infusão quente (porção de 2g)	Infusão gelada (porção de 2g)
Vitamina A*	2,52	13,07	0,18	0,02
Vitamina C*	0,44	0,43	0,36	1,22
Vitamina E*	8,22	1,54	-	-
Fósforo (P)**	-	2,55	-	-
Potássio (K)**	-	10,42	-	-
Cálcio (Ca)*	-	8,90	-	-
Magnésio (Mg)*	-	4,68	-	-
Cobre (Cu)**	-	5,44	-	-
Ferro (Fe)*	-	18,07	-	-
Zinco (Zn)*	-	2,71	-	-
Manganês (Mn)**	-	6,52	-	-
Sódio (Na)**	-	0,06	-	-
Cromo (Cr)**	-	17,14	-	-

Porção baseada na quantidade usualmente comercializada na forma de condimento (5g) e em sachês para preparação de chás (2g)

\*Calculado com base FAO/OMS. Human Vitamin and Mineral Requirements. In: Report 7 Joint FAO/OMS Expert Consultation, Bangkok, Thailand, 2001. Xxii + 286p.

\*\*Calculado com base Insitute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes. National Academic Press, Washigton D. C., 1999-2001.

- : Não foram realizadas análises de minerais e vitamina E nesses tratamentos

Porém, a literatura relata efeitos benéficos da bebida chá em relação ao controle do colesterol plasmático, pressão sanguínea e potencial antioxidante (STAVRIC, 1994; KONO, et al., 1997). Sendo assim, muitos componentes presentes nas ervas e chás são essenciais à saúde humana, portanto, o consumo regular pode contribuir para suprir as necessidades destes elementos e pode-se afirmar que o manjericão pode ser classificado como alimento funcional tendo em vista que é fonte de nutrientes e está relacionado com a prevenção de doenças (CARVALHO, et al., 2006).

#### **4. CONCLUSÃO**

O manjericão apresentou elevada umidade, baixa concentração de proteínas, lipídios e fibras. Não foram observadas diferenças significativas quanto às concentrações de vitamina C, vitamina E, compostos fenólicos e capacidade antioxidante entre a erva na forma fresca e desidratada e nos chás por infusão a quente e gelada. Verificou-se maior concentração e retenção de  $\beta$ -caroteno e eriodictiol na erva desidratada. O manjericão desidratado se mostrou fonte de manganês, cálcio e cobre, boa fonte de ferro, potássio, cromo e vitamina A e fonte de vitamina E na erva fresca. As concentrações de vitaminas C e A nas infusões foram muito reduzidas. Desta forma, o consumo do manjericão, especialmente na forma desidratada, pode contribuir de forma importante para a ingestão diária de minerais, vitaminas C e E, não sendo as infusões uma forma de consumo relevante para se atingir as recomendações nutricionais.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, M. da S; SANT'ANA, L.a S; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) perspectives. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 35, n. 1, p. 129-148, 2010.

ALMEIDA, D. M. et. al. Teores de óleo essencial e flavonóides totais em amostras de *Rosmarinus officinalis* L. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 91. n. 4, p. 170-5, 2010.

ALVAREZ V., V.H. et al. **Métodos de análises de enxofre em solos e plantas**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2001. 131p.

AKKOL, E. K.; GÖGER, F.; KOŞAR, M.; CAN BAŞER, K. H. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. **Food Chem.**, v. 108, n. 3, p. 942–949, 2008.

ARAÚJO, W.M.C. et al. Transformação dos alimento: Hortaliças, Cogumelos, Algas e Frutas. In: ARAÚJO, W.M.C. et al. **Alquimia dos alimentos**. Brasília: Editora Senac, 2010.

BERTOL, A.; ALMEIDA, S. M. Z.; ALMEIDA, L. P. Determinação de minerais em algumas plantas medicinais utilizadas em xanxerê – oeste catarinense. **Unoesc & Ciência** - ACBS Joaçaba, v. 6, n. 1, p. 53-58, jan./jun. 2015.

BEYER, P. L. Digestão, absorção, transporte e excreção de nutrientes. In: MAHAN, L.K., ESCOTT-STUMP, S., RAYMOND, J.L. **Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

BLOOR, S. J. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. In: LESTER, P. (Ed.). **Methods in Enzymology**: Academic Press, v. Volume 335, 2001. p.3-14.

BONANNI, A. Electrochemical biosensors as a tool for antioxidant capacity assessment. **Food Chemistry**, v.102, p. 751-758, 2007.

BRAGA, J.M. & DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica do fósforo em extrato de solo e plantas. **Revista Ceres**, v. 21: p. 73-85, 1974.

BRUNKEN, G. S.; GUIMARÃES, L. V.; FISBERG, M. Anemia em crianças menores de 3 anos que frequentam creches públicas em período integral. **Jornal de Pediatria**, v. 78, p. 50-56, 2002.

BUCHHOLZ, A. C.; SCHOELLER, D. A. Is a calorie a calorie? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 899-906, May, 2004.

CAMPOS, F. M. et al. Optimization of methodology to analyze ascorbic and dehydroascorbic acid in vegetables. **Química Nova** [S.l.], v. 32, p. 87-91, 2009.

CARDOSO, L. M et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. **Food chemistry**, v. 152, p. 210-217, 2014.

- CARVALHO, A. C. B. Regulação Brasileira em Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Revista Fitos**, v. 7, n. 1, naj/mar, 2012.
- CARVALHO, P. G. B. et al. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n.4, p. 397- 404, 2006.
- CAROVIĆ-STANKO, K. et al. Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. **Food Chemistry**, Easton, v. 119, p.196201, 2010.
- DANESI, F et al. Effect of cultivar on the protection of cardiomyocytes from oxidative stress by essential oils and aqueous extracts of basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 21, p. 9911-9917, 2008.
- DUARTE- ALMEIDA, J. M. et. al., Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ Ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, abr-jun, 2006.
- DYKES, Linda et al. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 313-317, 2009.
- EITENMILLER, R. R. Vitamin E contente of fats and oils – nutritional implications. **Food Technology**, v. 51, n. 5, p. 78-81, May, 1997.
- FERREIRA, F. C.; SILVEIRA JUNIOR, V. Secagem a Vácuo a Diferentes Pressões: Avaliações Físicas e Sensoriais de Manjeriço. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 1, p. 34-44, 1999.
- FRANCO, M. J. et al. Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama-PR. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, n. 2, v. 15, p. 121-127, 2011.
- FREITAS, A. S. et. al. Estabilidade dos carotenoides, antocianinas e vitamina C presentes no suco tropical de acerola (*Malpighia emarginata* dc.) adoçado envasado pelos processos hot-fill e asséptico. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, p. 942-949, 2006.
- GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M.; ALEJANDRO, M. R.; YORN LUI, M. C. Condimentos comerciais e ingredientes industriais: avaliação da capacidade antioxidante e do conteúdo de flavonóides para o desenvolvimento de alimentos funcionais. **Ciência Tecnologia Alimentação**, v. 31, n. 2, 2011.
- GOMES, M. R.; ROGERO, M. M. TIRAPÉGUI, J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. **Revista Brasileira Medicina do Esporte**, v. 11, n. 5, Set/Out, 2005.
- GONÇALVES, J. H. T.; SANTOS, A. S.; MORAIS, H. A. Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 13, n. 1, p. 486-497, 2015.

GUILARDUCCI, N. V. et al. Efeito da administração oral de extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* L.(alecrim) no desenvolvimento do Tumor Sólido de Ehrlich. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 10, n. 1, p. 23-32, 2016.

GUINAZI, M. **Tocoferóis e tocotrienóis em hortaliças ovos e óleos vegetais utilizados em restaurantes comerciais**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

HE, X. et. al. Chemical fingerprint analysis for quality control and identification of Ziyang green tea by HPLC. **Food Chemistry**, 171, 405–411, 2005.

HEINRICHS e MALAVOLTA. Composição mineral do produto comercial da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, 2001.

HINNEBURG, I. et. al. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 122-129, July, 2006.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids**. Washington (DC): National Academy Press; 2005.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Food and Nutrition Board. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc**. Washington, D.C., National Academy Press; 2001.

JAYASINGHE, C et al. Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4442-4449, 2003.

KATALINIC, V. et al. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. **Food Chemistry**, Barking, v. 94, n. 4, p. 550-557, Mar. 2006.

KODOMA, D. H. et. al. Flavonoids, total phenolics and antioxidante capacity: comparison between commercial green tea preparations. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, out/dez, 2010.

KONO, Y. et al. Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1335, p. 335-342, 1997.

KWEE, E M.; NIEMEYER, E D. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 1044-1050, 2011.

LENNIE, T. A; MOSER, D. K.; BIDDLE, M. J. et al. Nutrition intervention to decrease symptoms in patients with advanced heart failure. **Research in Nursing & Health**, v. 36, n. 2, p. 120-45, 2013.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiro. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 7, n. 2, p. 187-190, jul/dez. 2004.

MANELA-AZULAY, M. et al. Vitamina C. **Anais Brasileiros de Dermatologia**., Rio de Janeiro , v. 78, n. 3, p. 265-272, june 2003.

McDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. Academic Press London. 1992. 522p.

MELÉNDES-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Estabilida de los pigmentos carotenoides em los alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas. v. 54, n. 2, p. 209-215, jun. 2004.

MINAMI. K. et al. **A cultura do manjeriço**. Série produtor rural, n.36, Divisão de Biblioteca e Documentação, Piracicaba, 2006. p. 7-11.

MORAES-DE-SOUZA, R. A. **Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz, 2007.

NATESAN, S., RANGANATHAN, V. Content of various elements in different parts of the tea plant and in infusions of black tea from southern India. **Journal Science Food Agriculture**, London, v.51, p.125 – 139, 1990.

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL, 16<sup>TH</sup> Edition, Volume II, Section 45.4.07, **Method**, 985.29 (1997).

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL, 16<sup>TH</sup> Edition, Volume I, Section 12.1.07, **Method**, 960.52 (2005).

OLGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

OLIVEIRA, S. M. R. Nível Sérico de Alumínio: Influência da Água e de Alimentos Ingeridos Por Pacientes Com Insuficiência Renal Crônica Mantidos em Hemodiálise. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v. 25, n. 3, set. 2005.

OLIVEIRA, L. S. O. Plantas medicinais como recurso terapêutico em comunidade do entorno da reserva do Tinguá – RJ, Brasil – Metabólitos secundários e aspectos farmacológicos. **Revista Científica Internacional**. ano 4 – n. 17 Abril /Junho, 2015.

PEDRO, F. G. G. et al. Composição centesimal e mineral de plantas medicinais comercializadas no mercado do Porto de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.297-306, 2016.

PEREIRA, M. G. **Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de aves**. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria – UFSM. p. 128, 2009.

PEREIRA-ANGELIS, M. C. et al. Mecanismos moleculares de ação anti-inflamatória e antioxidante de polifenóis de uvas e vinho tinto na aterosclerose. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p 617-626, 2013.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e dietética**. Barueri: Manole, 2004.

PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8496-8502, 2011.

PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. et al. Evaluation of total carotenoids, alfa and beta-carotene in carrots (*Daucus carota* L.) during home processing. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 39-44, 1998.

REIS, R. et al. Cinética de secagem de folhas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) via infravermelho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.16, n.12, p.1346–1352, 2012.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. **A guide to carotenoid analysis in foods**. ILSI press. Washington D. Washington DC, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. Carotenoid changes in ripening *Momordica charantia*. **Annals of Botany**, v. 40, p. 615-624, 1976.

SANCHEZ-CASTILLO, C. P. et al. The mineral content of Mexican fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 11, n. 4, p. 340-356, December, 1998.

SAUNDERS, C. et al. Utilização de tabelas de composição de alimentos na avaliação do risco de hipovitaminose A. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 50, n. 3, set, 2000.

SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. **Análise química de plantas**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 56p. 1974.

SILVA, D. **A Química dos Chá: Uma temática para o ensino de química orgânica**. Dissertação. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-graduação em Educação em Ciências: Química da vida e saúde. UFSM- RS, 2011.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMMELA-RANVENSON, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOLIMAN, K.; ZIKOVSKY, L. Concentrations of Al in food sold in Montreal, Canada, and its daily dietary intake. **Journal Radional Nuclear Chemistry**, v. 242, n.3, p. 807-809, 1999.

STAVRIC, B. Role of chemoprevents in human diet. **Clinical Biochemistry**, v. 27, n. 5, p. 319-332, 1994.

SU, X. et al. Effects of soaking conditions on the antioxidante potenciales of oolong tea. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 4, p. 348-353, June, 2006.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** – TACO 4ª edição revisada e ampliada. NEPA – UNICAMP. - 4. ed. rev. e ampl. -- Campinas: NEPA- UNICAMP, p. 161, 2011.

TREJO, S. C.; PEDRAZA, C. J.; TORRES, R. M. et al. **Multiple molecular and cellular mechanisms of action of lycopene in cancer inhibition**. Evidence-based complementary and alternative medicine. v. 2013, p. 2-17, 2013.

VEADO, M. A. Metal pollution in the environment of Minas Gerais. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 117, n. 1-3, p. 157-72, Jun 2006.

WEI, A.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant/Lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils. **Journal Agriculture. Food Chemistry**, v. 58, n.12, p. 7218–7225, 2010.

YANG, Liyi et al. Sorghum phenolics demonstrate estrogenic action and induce apoptosis in nonmalignant colonocytes. **Nutrition and cancer**, v. 64, n. 3, p. 419-427, 2012.

ZHU, Q. Y. et al. Antioxidative activities of oolong tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 23, p. 6929-6934, 2002.

ZIELINSKI, A. A. F. et al. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. **Journal of food science**, v. 79, n. 4, p. C510C516, 2014.

### 5.3. ARTIGO 3: HORTELÃ (*Mentha spicata*) FRESCO, DESIDRATADO E SUAS INFUSÕES A QUENTE E GELADA: OCORRÊNCIA E CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS.

#### RESUMO

Este estudo investigou a ocorrência e concentração de macronutrientes, carotenoides, vitaminas (C, E), minerais, metais pesados, flavonoides, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante em hortelã (*Mentha spicata*) fresca, desidratada e seus chás preparados por infusão quente e gelada. A composição centesimal e fibras foram analisadas de acordo com a AOAC (2012). As análises de carotenoides, vitamina C, vitamina E e flavonoides foram realizadas por CLAE. Minerais e metais pesados foram determinados por ICP-AES. A análise de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foram por espectrofotometria. A erva apresentou elevada concentração de umidade (90,17%), baixa de proteína (0,88 g.100g<sup>-1</sup>), lipídios (0,33 g.100g<sup>-1</sup>) e fibras (4,59 g.100g<sup>-1</sup>). Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) quanto às concentrações de vitamina C e E, flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante entre a erva fresca e desidratada e entre os chás gelado e quente. As concentrações de carotenoides totais, vitamina C, vitamina E total e flavonoides totais na hortelã fresca (em mg.100g<sup>-1</sup>) foram 40,74; 1,11; 1,77 e 150,09, respectivamente. A hortelã desidratada apresentou menor concentração de luteína ( $p < 0,05$ ). A erva desidratada destacou-se como fonte de magnésio, boa fonte de potássio e vitamina A e excelente fonte de ferro, cromo e manganês. Assim, a hortelã pode contribuir para a ingestão adequada de nutrientes, podendo atuar de forma benéfica a saúde, devendo seu consumo ser incentivado na alimentação, especialmente na forma de condimento e adicionada em sucos na forma fresca.

**Palavras Chaves:** Carotenoides, vitaminas, minerais, flavonoides, compostos fenólicos, atividade antioxidante, ervas aromáticas.

### **ARTICLE 3: MINT (*Mentha spicata*) FRESH, DEHYDRATED AND ITS HOT AND COLD INFUSIONS: OCCURRENCE AND CONCENTRATION OF NUTRIENTS AND BIOACTIVE COMPOUNDS.**

#### **ABSTRACT**

This study deals with the occurrence and concentration of macronutrients, carotenoids, vitamins (C, E), minerals, heavy metals, flavonoids, total phenolic compounds and antioxidant capacity in fresh and dehydrated mint (*Mentha spicata*) and its hot and cold infusions. The centesimal composition and fibers were analyzed according to AOAC (2012). Analyses of carotenoids, vitamin C, vitamin E and flavonoids were performed by HPLC. Minerals and heavy metals were determined by ICP-AES. Analysis of total phenolic compounds and antioxidant capacity were determined by spectrophotometry. The herb presented high concentration of humidity (90.17%), low protein (0.88 g.100g<sup>-1</sup>), lipids (0.33 g.100g<sup>-1</sup>) and fibers (4.59 g.100g<sup>-1</sup>) concentrations. No significant difference ( $p > 0.05$ ) were observed for vitamin C and E concentrations, flavonoids, total phenolics and antioxidant capacity between the fresh and the dehydrated herb and between icy and hot teas. The concentrations of total carotenoids, vitamin C, total vitamin E and total flavonoids in fresh mint (in mg.100g<sup>-1</sup>) were 40.74; 1.11; 1.77 and 150.09, respectively. The dehydrated mint presented lower concentration of lutein ( $p < 0.05$ ). The dehydrated herb stood out as a source of magnesium, a good source of potassium and vitamin A and excellent source of iron, chromium and manganese. Thus, mint can contribute to an index of nutrients, and can act in a beneficial way to health, and its consumption should be encouraged in food, especially in the form of condiment and added in juices in fresh form.

**Key words:** Carotenoids, vitamins, minerals, flavonoids, phenolic compounds, antioxidant activity, herbs.

## 1. INTRODUÇÃO

Em plantas utilizadas como chás, as atividades biológicas estão associadas, em parte, à ação antioxidante de seus compostos químicos. A eficácia dessa capacidade depende da espécie da erva, da quantidade e tipo de compostos fenólicos presentes (DAMIANI et al., 2014; ZIELINSKI et al., 2014).

As plantas pertencentes à família *Lamiaceae* são ricas em compostos polifenólicos. Suas espécies e subespécies não variam muito na composição, contendo provitamina A, vitaminas do complexo B e C, minerais (cálcio, fósforo, ferro e potássio) e exercem ação tônica e estimulante sobre o sistema digestório, além de propriedades terapêuticas, tais como sedativa, digestiva, antisséptica e ligeiramente anestésica (BRAHMI et al., 2015).

A hortelã (*Mentha spicata*) pertence ao gênero *Mentha*, um membro importante da família *Lamiaceae*, que inclui dezoito espécies e onze híbridos, entre os quais várias espécies têm importância econômica (TUCKER e NACZI, 2007; LIU e LAWRENCE, 2007), entre elas *Mentha spicata* (hortelã-de-cozinha, comum, verde) *Mentha arvensis* (menta japonesa, hortelã doce) e *Mentha piperita* (hortelã-pimenta). São plantas, em geral, herbáceas ou arbustivas, com folhas opostas e cruzadas, inteiras e, em geral, com cheiro intenso característico. Suas folhas e flores são ricas em óleos essenciais, e estes, por sua vez, apresentam uma concentração diferenciada de acordo com a estação do ano, até três vezes maior se as plantas forem coletadas no verão se comparadas às do inverno (SILVA et al., 1995; JOLY, 1998).

A infusão e decocção de partes aéreas da hortelã têm sido usadas durante séculos como tônicos, atividade carminativa (antiflatulento), digestivo estomacal, antiespasmódico (redução da contração do tecido muscular), e anti-inflamatório na medicina popular (BRAHMI et al., 2015).

Especiarias e chás têm sido reconhecidos pelos benefícios à saúde humana devido à presença de compostos bioativos, como flavonoides, vitaminas, minerais e polifenóis naturais, que proporcionam propriedades nutricionais e antioxidantes (ROGINSKY e LISSI, 2005; BAKKALI et al, 2008). No entanto, os estudos com outras espécies de hortelã são direcionados à determinação da capacidade antioxidante (SINGH et al., 2015); compostos fenólicos (BENABDALLAH et al., 2016) em ervas de outros países. Até o

momento, estudos com uma caracterização mais completa da composição nutricional e de compostos bioativos dessa espécie no Brasil são inexistentes. Foi encontrado apenas um estudo com a *Mentha spicata*, que investigou micronutrientes (vitaminas e minerais), fenólicos e propriedades antioxidantes na Turquia (TURKOGLU, 2015).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo investigar a ocorrência e concentração de carotenoides, vitaminas (C e E), minerais (Fe, Zn, Ca, Mg, Mn, Cu, Cr, Na, K, S e P), metais pesados (Pb, Cd, Ni e Al), flavonoides (flavonas e flavanonas), compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, além da concentração de macronutrientes e fibras presentes na hortelã comum fresca, desidratada e suas infusões quente e gelada.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Coleta e preparação das amostras**

Foram coletadas aleatoriamente de 200 gramas a 400 gramas de hortelã (Figura 1) em uma feira livre e com dois agricultores da zona rural, do município de Viçosa, Minas Gerais, entre os meses de Janeiro a Maio de 2017. As amostras foram identificadas, embaladas em sacos plásticos, envolvidas em papel alumínio, colocadas em caixa de isopor e transportadas para o laboratório de Análises de Vitaminas (LAV) do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (DNS-UFV).

Foram selecionadas as folhas, lavadas em água corrente e secas com auxílio de papel toalha. Em seguida foram protegidas da luz e armazenadas em geladeira ( $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), até o momento das análises de umidade, carotenoides, vitaminas e flavonoides, que ocorreram entre 1 e 2 dias. Para análise de macronutrientes, fibras e minerais, as ervas foram desidratadas, protegidas da luz e armazenadas em freezer ( $-18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) até o momento da análise nos laboratórios de Análise de Alimentos, Nutrição Experimental (DNS) e Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizantes (Departamento de Solos - UFV-MG), respectivamente.

Para a desidratação da erva, imediatamente após chegar ao LAV e ser higienizada, conforme procedimento acima, passou por processo de secagem

em estufa a 80°C por 3 horas e foi armazenada em freezer até o momento das análises.



**Figura 1:** Representação fotográfica da hortelã comum (*Mentha spicata* L) utilizada nesse estudo.

Fonte: Googles imagens

## **2.2. Preparação dos chás**

A extração a quente foi realizada de acordo com a metodologia de Zielinski et al. (2014). Dois gramas de amostra foram extraídas com 100 mL de água destilada a 80°C, deixando sob agitação magnética durante 7,5 minutos.

A extração em água gelada foi realizada com 2,0 gramas de amostra em 100 mL de água destilada, em temperatura de 7 a 10°C, em imersão por cerca de 15 minutos, sob agitação magnética (ZIELINSKI et al., 2014).

Todos os extratos foram filtrados em papel filtro quantitativo 125 milímetros (Unifil) e deixados no freezer a -20°C até análise. A partir deste material, foi retirada uma alíquota para análise.

## **2.3. Determinação da Composição Centesimal**

Umidade, cinzas, proteínas e lipídios foram determinados, em triplicata, de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists* e Fibra alimentar (total, solúvel e insolúvel), foi analisada em duplicata segundo a AOAC (2012).

A umidade foi determinada usando estufa com circulação forçada de ar, (Nova Ética, modelo 400 / 6ND, São Paulo, Brasil) a 105°C e as cinzas foram quantificadas usando um forno de mufla (Quimis, modelo Q320 M, Brasil) a 550°C. Os carboidratos foram calculados por diferença, por meio da seguinte

equação: [100 (% de umidade +% de lipídios +% de proteínas +% fibra dietética total +% de cinzas)]. Fibra total, insolúvel e solúvel foram determinadas pelo método gravimétrico não enzimático. O valor energético total da hortelã foi estimado considerando os fatores de conversão de 4 kcal/g para proteína ou carboidratos e 9 kcal/g por lipídios.

#### **2.4. Extração e análise de carotenoides**

Os carotenoides (luteína e  $\beta$ -caroteno) foram extraídos segundo o método de Rodriguez-Amaya (2001), com adaptações.

Para extração dos carotenoides da hortelã, foram pesados 2,5 gramas de amostra desidratada e 5 gramas da amostra fresca, os quais foram homogeneizados em 15 mL de acetona resfriada, com o auxílio de um microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) por 5 minutos. A suspensão obtida foi filtrada a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. Em seguida, o procedimento de extração foi repetido por mais duas vezes adicionando-se 15 mL de acetona resfriada ao resíduo, com posterior homogeneização e filtração a vácuo (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Em seguida, foi realizada a partição dos carotenoides da acetona para o éter de petróleo. O filtrado foi transferido, em três frações, para um funil de separação contendo 50 mL de éter de petróleo resfriado. Após a transferência de cada fração, adicionaram-se aproximadamente 100 mL de água destilada, sendo repetido o processo por três vezes, para a separação de fases para a separação de fases (carotenoides - éter de petróleo e acetona-água), sendo a fase inferior (acetona-água) descartada. Acrescentou-se sulfato de sódio anidro ao extrato etéreo para remoção de qualquer resíduo de água. Posteriormente, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Tecnal, TE-211) a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , transferido para um balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume completado com éter de petróleo e armazenados em frasco âmbar no freezer. Pipetaram-se 5 mL da amostra em béquer âmbar e este volume foi evaporado em nitrogênio, retomando-se em 2 mL de acetona grau HPLC e, em seguida, filtrado em unidades filtrantes (0,45  $\mu\text{m}$ , Millipore, Brasil), sendo injetados 30  $\mu\text{L}$  na coluna cromatográfica.

Para extração dos carotenoides dos chás, dois gramas de amostras desidratadas foram pesados e destinados ao preparo dos chás, conforme item 2.3. A infusão foi filtrada em papel de filtro, sendo 20 mL homogêneos em 20 mL de acetona resfriada, com o auxílio de um microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) por 5 minutos. O volume final foi filtrado e as demais etapas procederam conforme o realizado para as ervas de acordo com Rodriguez-Amaya, (2001).

As análises de carotenoides ocorreram conforme o proposto por Pinheiro-Sant'Ana et al. (1998), incluindo sistema CLAE- DAD, (Shimadzu, SPD-M10A, Japão); coluna cromatográfica Phenomenex Gemini (250 x 4 mm i.d., 5 µm), munida de coluna de guarda Phenomenex ODS (C18) (4mm x 3mm), fase móvel composta por metanol: acetato de etila: acetonitrila (80:10:10); eluição isocrática; fluxo da fase móvel de 2,0 mL/min. O tempo de corrida foi de 12 min e os cromatogramas foram obtidos em comprimento de onda de 450 nm.

A identificação dos carotenoides foi realizada pela comparação dos tempos de retenção de padrões autênticos (Aldrich®, Alemanha) e dos picos de interesse nas amostras e pelos espectros de absorção dos padrões e dos picos de interesse das amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando curvas analíticas construídas a partir da injeção, de seis diferentes concentrações de soluções padrão (equação: β- caroteno  $y = 7.226.117,93x + 6.568,38$ ,  $R^2 = 1,00$  e luteína  $y = 3.549.000,7x + 294.805,76$ ,  $R^2 = 1,00$ ). Os carotenoides foram expressos em  $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de amostra, como componentes isolados e como soma de carotenoides.

A concentração de vitamina A foi calculada segundo as recomendações do *U. S. Institute of Medicine* (2011) em que 1 Equivalente de Atividade de Retinol (RAE) corresponde a 1 µg de retinol; 12 µg de β-caroteno; 24 µg de outros carotenoides pró-vitamínicos.

## **2.5. Extração e análise de vitamina C**

As condições utilizadas para extração e análise de vitamina C, na forma de ácido ascórbico (AA), foram otimizadas por Campos et al. (2009).

Para extração de vitamina C na erva foram pesados 2,5 gramas de erva desidratada e 5 gramas de erva fresca, aos quais foram adicionados 15 mL de solução extratora (ácido metafosfórico 3%, ácido acético 8%, ácido sulfúrico 0,3 N e EDTA 1 mM). A mistura foi homogeneizada em microtritador (IKA® T18 basic Ultra Turrax®) durante 5 minutos. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas (Nuve® NF 1200R Bench-Top Centrifuge) a 2349 g por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e filtrado a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro. Em seguida este filtrado foi transferido para um balão volumétrico, sendo o volume completado para 25 mL com água ultrapura.

Para extração de vitamina C dos chás, a infusão foi preparada de acordo com o item 2.3. Em seguida, foi filtrada em papel de filtro, sendo 20 mL desta adicionados de 15 mL da solução extratora, procedendo-se as mesmas etapas da extração proposta por Campos et al. (2009).

Para análise do AA, as condições cromatográficas utilizadas foram: sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD) (Shimadzu, SPD-M10A, Japão); coluna cromatográfica RP-18 Synergy Hidro 100, 250 x 4,6 mm, 5 µm, munida de coluna de guarda (C 18,4 mm x 3 mm); fase móvel composta por 1 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM EDTA, pH ajustado a 3,00 com ácido fosfórico e fluxo de 1,0 mL/minuto. O tempo de corrida foi de aproximadamente 7 minutos e o volume de injeção de 100 a 300 µL. Os cromatogramas foram obtidos em comprimento de onda de 245 nm.

A identificação do AA foi realizada pela comparação entre os tempos de retenção de padrão autêntico (Proquímios, Brasil) e do pico de interesse nas amostras e pelos espectros de absorção dos padrões e picos de interesse das amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando curva analítica construída pela injeção, em duplicata, de uma solução padrão de concentração conhecida, com cinco injeções, com variação no volume (equação:  $y = 2.055.977,81x - 69.549,76$   $R^2 = 1,00$ ). A concentração de vitamina C foi expressa em mg.100g<sup>-1</sup>.

## 2.6. Extração e análise de vitamina E

A extração e análise dos componentes da vitamina E ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ -tocoferóis e tocotrienóis) foram realizadas apenas na erva fresca e desidratada. Não foi realizada análise de vitamina E nos chás, uma vez que o protocolo utilizado no Laboratório de Análises de Vitaminas – DNS- UFV não é validado para análises em meio aquoso. Além da vitamina em questão ser lipossolúvel e os reagentes utilizados no métodos não serem capazes de extrair a vitamina em água.

O método baseou-se em Pinheiro-Sant'Ana et al. (2011), com algumas modificações. Dez gramas de amostra fresca e cinco g da amostra seca foram adicionados de 4 mL de água ultrapura aquecida ( $80 \pm 1^\circ\text{C}$ ), 10 mL de isopropanol, 1 mL de hexano contendo 0,05% de BHT, 5 gramas de sulfato de sódio anidro e 25 mL da mistura solvente de extração (hexano: acetato de etila, 85:15, v/v). Posteriormente, a suspensão foi homogeneizada utilizando-se microtritador (IKA T 18<sup>®</sup> Ultra Turbax), durante 1 minuto. Em seguida, a suspensão foi filtrada a vácuo em funil de Büchner utilizando-se papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. A etapa de extração foi repetida, adicionando-se ao resíduo 5 mL de isopropanol e 30 mL da mistura solvente de extração, com posterior homogeneização por 1 minuto. Após, rinsou-se a haste do triturador com 10 mL da solução extratora e realizou-se a filtração a vácuo. Em seguida, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Quimis, modelo 344.1), a  $70 \pm 1^\circ\text{C}$  (2 minutos), transferido para balão volumétrico e o volume completado para 25 mL com mistura solvente de extração.

Após a extração, alíquotas de 5 mL do extrato foram secas em nitrogênio gasoso, redissolvidas em 2 mL de hexano grau HPLC e filtradas utilizando-se unidades filtrantes de porosidade 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore, Brasil).

As análises de vitamina E na erva foram realizadas injetando-se 1 e 10  $\mu\text{L}$  dos extratos. As condições cromatográficas utilizadas incluíram: sistema CLAE (Shimadzu, SCL 10AD VP); detector de fluorescência (290 nm de excitação e 330 nm de emissão); coluna cromatográfica Phenomenex Luna Si100 (250 x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) acoplada de coluna de guarda Phenomenex Si100 (4 x 3 mm); fase móvel – hexano: isopropanol: ácido acético glacial (98,9: 0,6: 0,5, v/v/v); fluxo da fase móvel de 1,0 mL/min e tempo de corrida de aproximadamente 21 minutos.

A identificação dos componentes da vitamina E foi realizada comparando-se o tempo de retenção dos padrões autênticos (Calbiochem, EMD

Biosciences Inc. EUA), e dos componentes de interesse nas amostras, analisados sob as mesmas condições. A quantificação foi realizada por padronização externa por meio da comparação das áreas dos picos de interesse com aquelas obtidas nas curvas analíticas construídas a partir da injeção, em duplicata, de seis diferentes concentrações de soluções dos padrões comerciais autênticos (Calbiochem, Canadá). As concentrações de vitamina E foram expressas em  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ , como componentes isolados e como vitamina E total (soma dos componentes da vitamina E encontrados nas amostras) (IOM, 2000).

### **2.7. Determinação de minerais e metais pesados**

Foi realizada análise apenas na erva desidratada uma vez que o protocolo utiliza a planta dessa forma e por quereremos assemelhar a erva comercializada em sachês para chá, estando essa na forma desidratada.

Para análise e determinação de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Ni, Cd, Al e Pb utilizou-se a digestão nitroperclórica (Sarruge & Haag, 1974), e as análises foram feitas por espectrofotometria de absorção atômica em plasma indutivamente acoplado (ICP-EAS) (Perkin Elmer, Optima 3300 DV). A determinação de P foi feita por colorimetria pelo método do ácido ascórbico (Braga & Defelipo, 1974); a determinação de K foi realizada por fotometria de chama; a determinação de S foi realizada por turbidimetria de acordo com método de Alvarez et al. (2001) e metais pesados.

### **2.8. Extração e análise de flavonoides**

Foram investigadas no alecrim as flavonas (luteolina e apigenina) e flavanonas (naringenina e eriodictiol).

Para a extração, pesaram-se 2,5 gramas da erva desidratada e fresca, sendo adicionados de 10 mL de metanol/HCl a 1% (v:v); após, procedeu-se a agitação em banho metabólico (Marconi, MA231, Brasil) por 2 horas, a 180 rpm. Em seguida, a suspensão foi centrifugada (Nuve® NF 1200R Bench -Top Centrifuge) a 4000 rpm (2349 g), por 5 minutos, sendo o sobrenadante coletado e seu volume completado para 20 mL com metanol acidificado. Posteriormente, o extrato foi acondicionado em frasco âmbar e armazenado em freezer (-18 ± 1°C) até análise (DYKES et al., 2009), que ocorreu no mesmo dia.

A concentração dos flavonoides foi analisada simultaneamente na erva aromática por CLAE. O método proposto por Yang et al. (2012) e modificado por Cardoso et al. (2014) foi utilizado para identificar e quantificar os flavonoides no alecrim. As análises foram realizadas em um sistema CLAE equipado com DAD (Shimadzu, SPD-M10A, Japão), bomba quaternária para gradiente de alta pressão (Shimadzu, LC-10AT VP, Japão), auto-injetor com loop de 500 µL (Shimadzu, SIL-10AF, Japão), e sistema de degasamento da fase móvel com gás hélio (Shimadzu, DGU-2 A, Japão).

As condições cromatográficas utilizadas incluíram coluna C-18 Kinetex (150 mm x 4,6 mm, 5 µm) equipada com coluna de guarda C-18 (4 mm x 3 mm) (Phenomenex, Torrance, CA), temperatura da coluna a 35 °C, volume de injeção de 15 a 30 µL, varredura do espectro de 200 a 700 nm, com detecção a 360 nm para flavonas e 280 nm para flavanonas. A fase móvel foi composta de 2% de ácido fórmico em água ultrapura (linha A) e 2% de ácido fórmico em acetonitrila (linha B). O gradiente de eluição para B foi o seguinte: 0-3 minutos, 10% isocrático; 3-4 minutos, 10-12%; 4-5 minutos, 12% isocrático; 5-8 minutos, 12-18%; 8-10 minutos, 18% isocrático; 10-12 minutos, 18-19%; 12-14 minutos, 19% isocrático; 14-18 minutos, 19-21%; 18-22 minutos, 21-26%; 22-28 minutos, 26-28%; 28-32 minutos, 28-40%; 32-34 minutos, 40-60%; 34-36 minutos, 60% isocrático; 36-38 minutos, 60-10%; 38-45 minutos, 10% isocrático. A fase móvel foi desgaseificada com gás hélio (50 kPa) durante as corridas, utilizando o seguinte gradiente de fluxo: 0-36 minutos, 1,0 mL/minuto; 36-38 minutos, 1,0-2,0 mL/minuto; 38-44 minutos, 1,0 mL/minuto; 44-45 minutos, 1,0-2,0 mL/minuto.

A identificação dos flavonoides foi realizada pela comparação entre os tempos de retenção de padrões autênticos e dos picos de interesse nas amostras e entre os espectros de absorção dos padrões e picos de interesse nas amostras, obtidos pelo DAD, analisados sob as mesmas condições. A quantificação de cada composto foi realizada por padronização externa, utilizando curvas analíticas construídas pela injeção, em duplicata, de cinco diferentes concentrações de soluções padrão, os compostos foram expressos em mg.100g<sup>-1</sup> de amostra, como componentes isolados e como soma de flavonoides.

## **2.9. Determinação de compostos fenólicos totais**

Para extração dos compostos fenólicos da erva utilizou-se 1 grama de erva fresca e desidratada, as quais foram adicionadas de 20 mL de solução metanólica a 60%. Em seguida, a suspensão foi agitada a 180 rpm (2 horas) e centrifugada a 2790 *g* (15 minutos). O sobrenadante foi completado para 20 mL com a solução metanólica, transferido para um frasco âmbar e armazenado em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) até o momento da análise.

Para extração dos compostos fenólicos nos chás, após a preparação dos mesmos conforme item 2.3, uma amostra de 10 mL foi adicionada de 15 mL de solução metanólica a 60%. Em seguida, a suspensão foi agitada a 180 rpm (2 horas) e centrifugada a 2790 *g* (15 minutos). Quando necessário, a solução foi avolumada para 20 mL com a solução metanólica, transferida para um frasco âmbar e armazenada em freezer ( $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ ) para prosseguir a realização da análise.

O total de compostos fenólicos foi determinado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Para análise, 500  $\mu\text{L}$  do extrato foram adicionados de 500  $\mu\text{L}$  de solução de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Alemanha) a 20% e 500  $\mu\text{L}$  de solução de carbonato de sódio a 7,5%. Em seguida, a solução foi agitada em vórtex (10 segundos) e incubada por 30 minutos em temperatura ambiente e protegida da luz. Realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Evolution 60S, ThermoScientific, EUA) a 765 nm. A quantificação foi realizada utilizando curva analítica construída a partir da leitura da absorbância a 765 nm, de cinco soluções com diferentes concentrações de ácido gálico, em duplicata. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de amostra ( $\text{mg.EqAG.100g}^{-1}$  de amostra).

## **2.10. Determinação da capacidade antioxidante**

A atividade de retirada de radical (ARR) das amostras foi realizada a partir do extrato preparado para a análise de fenólicos totais utilizando o método do radical DPPH (2,2-difenil-2-picril-hidrazil) (BLOOR, 2001). Para tanto, uma alíquota de 2,5 mL do extrato foi adicionada de 1,5 mL de solução metanólica de DPPH (Sigma-Aldrich, Alemanha) 0,1 mM (1,0 mL). Foi realizada a agitação em

vórtex; em seguida, o extrato foi deixado em repouso para reagir por 30 minutos ao abrigo da luz. A absorvância foi lida em espectrofotômetro (ThermoScientific, ELISA Multiskan GO) a 517 nm.

A capacidade para eliminar o radical DPPH\* foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$\text{ARR}(\%) = 100 \% - [(\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco} \div \text{Abs. controle}) \times 100]$$

Em que:

ARR: Atividade de retirada de radical

Abs. controle: absorvância do controle (solução de DPPH\* sem a amostra);

Abs. amostra: absorvância da amostra-teste (solução de DPPH\* mais a amostra teste);

Abs. branco: absorvância da solução de extração apenas, sem amostra ou solução de DPPH\*.

### **2.11. Delineamento experimental e análise estatística dos dados**

Trata-se de um estudo transversal, em que as concentrações de nutrientes e de compostos bioativos da hortelã na forma fresca e desidratada e submetida à infusão em água quente e em água gelada foram avaliadas utilizando o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 3 repetições.

Os dados foram avaliados quanto à normalidade utilizando o teste de *Shapiro-Wilk*. Em seguida, os dados analisados por teste t de Student ou Mann Whitney. Utilizou-se o *software* SPSS versão 23.0, adotando-se um nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%.

### **2.12. Avaliação do potencial de contribuição da hortelã e suas infusões para o atendimento das recomendações de vitaminas e minerais**

O potencial de contribuição nutricional das ervas e chás foi estimado com base nas *Recommended Dietary Allowance* (RDA), para adultos com idade entre 18 a 59 anos (IOM, 2001). As porções de ervas foram calculadas de acordo com quantidades usualmente consumidas/comercializadas. A contribuição nutricional se baseou em embalagens de ervas desidratadas comercializadas em mercado

(5g) e o indicado para preparo de chás na forma de sachês (2g), uma vez que não existe na literatura recomendação de porções para ervas.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Composição centesimal da hortelã**

Estudos sobre a composição centesimal da hortelã comum são inexistentes até o momento. A hortelã fresca apresentou 90,17% de umidade, aproximadamente 20% a mais do que encontrado por Ferreira e Silveira Junior (1999) em manjerição, ficando mais próximo ao relatado por Moraes et al. (1995) (em média de 81,76%) em cinco plantas medicinais distintas.

A concentração de cinzas da hortelã foi 7,93 g.100g<sup>-1</sup>, próxima à encontrada por Almeida et. al. (2010) em amostras de alecrim (5,93, a 8,46%) e também no estudo de Bertol et. al., (2015), onde as concentrações de cinzas em barbatimão, carqueja e quebra-pedra variaram de 1,64 a 8,44 g.100g<sup>-1</sup>. Vale salientar que a Farmacopeia Brasileira (2005) aponta que a hortelã pimenta, apresenta 15,00 g.100g<sup>-1</sup> de cinzas, concentração que é bem superior à da hortelã comum do presente estudo.

A Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil (POF 2008-2009) e de Composição de Alimentos (TACO, 2011), não apresentam a composição centesimal da hortelã. Em nosso estudo, a hortelã apresentou 0,88 g.100g<sup>-1</sup> de proteína, diferindo de Pedro et al. (2016) que relataram 5,44 g.100g<sup>-1</sup>, 8,62 g.100g<sup>-1</sup>, 9,35 g.100g<sup>-1</sup> e 2,36 g.100g<sup>-1</sup> de proteína em barbatimão, carqueja, quebra pedra e mangava brava, respectivamente.

A concentração média de lipídios na hortelã comum foi 0,33g.100g<sup>-1</sup>, similar ao observado por Pedro et al. (2016), em outras ervas: barbatimão (1,01 g.100g<sup>-1</sup>), carqueja (1,69 g.100g<sup>-1</sup>) e mangava brava (0,48 g.100g<sup>-1</sup>) e a TACO (2011), que mostra 0,4 g.100g<sup>-1</sup> de lipídios no manjerição.

A concentração de carboidratos na hortelã comum analisada no presente estudo foi de 7,93 g.100g<sup>-1</sup>, diferindo da Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil (POF 2008-2009), que mostra 0,2 g.100g<sup>-1</sup> na hortelã, valor bem inferior ao encontrado em nosso estudo. Já a TACO (2011),

mostra em outras ervas como salsa e manjeriço 3,3 g.100g<sup>-1</sup> e 2 g.100g<sup>-1</sup> de carboidratos.

De acordo com a literatura as hortaliças e ervas possuem baixo valor calórico (TACO, 2011). A hortelã em nosso estudo apresentou baixo valor energético (2 Kcal na porção de 5 g de erva). A TACO, não traz a composição centesimal da mesma, mas mostra que o manjeriço e a salsa possuem 1 kcal/5g e 4kcal/5g, respectivamente. Dessa forma, assim como outras ervas, a hortelã comum não é considerada calórica e sua ingestão não se mostra significativa para o consumo energético diário.

Neste estudo identificamos que a hortelã comum apresentou 4,59 g.100g<sup>-1</sup> de fibra total, 3,97 g.100g<sup>-1</sup> de fibra insolúvel e 0,62 g.100g<sup>-1</sup> de fibra solúvel. Considerando uma porção de 5g/dia, quantidade usualmente comercializada em pacotes, na forma de condimento para temperar alimentos, a hortelã desidratada do presente estudo pode fornecer 0,77% da recomendação de fibras, contribuindo minimamente para uma ingestão adequada de fibras.

A origem, variedades das ervas e as diferenças nas estruturas vegetais das plantas, podem afetar a composição centesimal das mesmas, resultando em valores diferentes nos estudos existentes na literatura (BERTOL et al., 2015).

### **3.2. Carotenoides, vitamina C e vitamina E na hortelã e suas infusões**

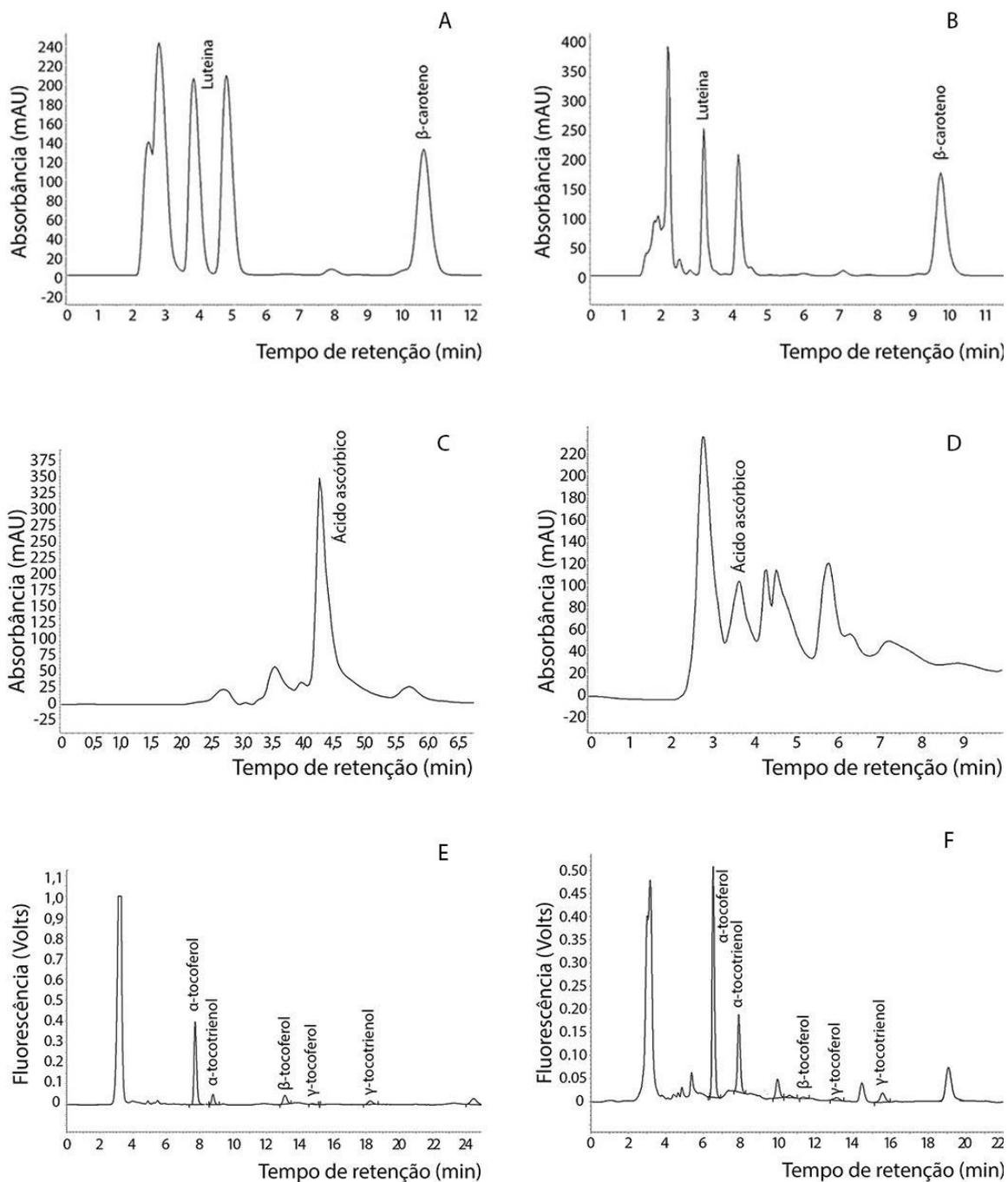
A análise qualitativa da hortelã indicou a presença dos seguintes componentes na hortelã fresca:  $\beta$ -caroteno (tempo de retenção - RT = 10,5 min); luteína (RT = 4 min); ácido ascórbico (RT = 4,5 min);  $\alpha$ -tocoferol (RT = 8 min),  $\alpha$ -tocotrienol (RT = 9 min),  $\beta$ -tocoferol (RT = 13 min),  $\gamma$ -tocoferol (RT = 15 min) e  $\gamma$ -tocotrienol (RT = 18 min). Na erva desidratada observou-se a presença de  $\beta$ -caroteno (RT = 10 min); luteína (RT = 3,5 min); ácido ascórbico (RT = 3,5 min);  $\alpha$ -tocoferol (RT = 6,5 min),  $\alpha$ -tocotrienol (RT = 8 min)  $\beta$ -tocoferol (RT = 12 min),  $\gamma$ -tocoferol (RT = 13 min) e  $\gamma$ -tocotrienol (RT = 16 min) (Figura 1).

Os carotenoides em nosso estudo se mostraram em quantidades bem maiores na hortelã fresca ( $\beta$ -Caroteno 3,76 mg.100g<sup>-1</sup> e luteína 36,98 mg.100g<sup>-1</sup>) (Tabela 1), ao se comparar com resultados de Pereira e Angelis – Pereira (2013) em que a sálvia e a salsa frescas apresentaram 2,78 e 4,56 mg.100g<sup>-1</sup> de  $\beta$ - caroteno e 6,35 mg.100g<sup>-1</sup> e 8,3 mg.100g<sup>-1</sup> de luteína. No estudo de Curutchet

et al. (2014) com duas espécies de hortelã frescas, uma delas a comum, foram encontrados 60 mg.100g<sup>-1</sup> de carotenoides totais na comum, valor um pouco maior que a hortelã de nosso estudo e 50 mg.100g<sup>-1</sup> na hortelã pimenta, quantidade próxima da erva que analisamos.

A luteína foi encontrada em maior quantidade na hortelã fresca, ( $p < 0,05$ ). A concentração de  $\beta$ - caroteno não diferiu entre a erva fresca e desidratada ( $p > 0,05$ ). Na hortelã desidratada a retenção de  $\beta$ - caroteno foi acima de 100%, enquanto a retenção de luteína foi de apenas 11,80%, mostrando grande perda e baixa estabilidade do composto. As moléculas de carotenoides são susceptíveis à oxidação durante o processamento de alimentos, porém a biodisponibilidade pode ser melhorada, resultado da dissociação ou enfraquecimento da complexidade da ligação entre os carotenoides e a matriz das células de vegetais (SAUNDERS et al., 2000).

Em relação a retenção do  $\beta$ - caroteno maior que 100% pode ser explicada pelo fato do composto ter sido preservado após o aquecimento ou que a temperatura pode ter promovido uma maior extração do componente e conseqüentemente aumentar sua concentração ou pode ter ocorrido isomerização de compostos, alteração da forma cis e trans, alterando a estrutura molecular, podendo levar a transformação de um composto em outro e o tornando mais biodisponível.



**Figura 2:** Análise por CLAE de carotenoides em hortelã fresca (A) e desidratada (B); ácido ascórbico em hortelã fresca (C) e desidratada (D); vitamina E em hortelã fresca (E) e desidratada (F).

Os carotenoides atraem a atenção dos pesquisadores em virtude de suas ações no tratamento de doenças como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, desordens fotossensíveis e do sistema imune. Sua atividade provitamínica A é uma das mais importantes, o β-caroteno corresponde ao mais

abundante em alimentos e ao que apresenta a maior atividade de conversão em vitamina A (AMBROSIO, et al., 2006).

**Tabela 1:** Concentração de carotenoides, vitamina C e E na hortelã fresca e desidratada

<b>Compostos</b>	<b>Erva fresca</b>	<b>Erva desidratada</b>	<b>Retenção Real (%)*</b>
<i>Vitamina C (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	1,11±0,40 <sup>a</sup>	2,29±1,46 <sup>a</sup>	35,35
<i>Carotenoides (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
β-Caroteno	3,76±3,27 <sup>a</sup>	26,17±16,21 <sup>a</sup>	119,24
Luteína	36,98±1,78 <sup>a</sup>	25,52±1,93 <sup>b</sup>	11,8
<i>Soma Carotenoides (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	40,36±22,80	42,69±8,26	
<i>Valor de vitamina A (RAE.100g<sup>-1</sup>)</i>	313,33	2180,83	
<i>Vitamina E (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
α-Tocoferol	1,31±0,76 <sup>a</sup>	0,89±0,52 <sup>a</sup>	19,72
α-Tocotrienol	0,38±0,32 <sup>a</sup>	2,38±0,91 <sup>a</sup>	83,93
β-Tocoferol	0,03±0,034 <sup>a</sup>	nd	-
β-Tocotrienol	nd	nd	-
γ-Tocoferol	Traços	Traços	0
γ-Tocotrienol	0,06±0,07 <sup>a</sup>	0,08±0,08 <sup>a</sup>	23,32
<i>Soma vitamina E (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	1,54±0,49	3,67±5,64	

Dados expressos em base fresca como média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para cada composto, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste t.

nd: não detectado;

\*Retenção Real (%RR): Calculado de acordo com a fórmula de Murphy, Criner e Gray (1975) -  

$$\% \text{ RR} = \frac{\text{concentração do composto na erva processada} \times \text{peso (g) da erva processada}}{\text{Concentração do composto na erva antes do processamento} \times \text{peso (g) da erva antes do processamento}} \times 100$$

De acordo com o relatado nos estudos de Kobori e Rodriguez-Amaya (2008), Ninomia e Godoy (2008) e Niizu e Rodriguez- Amaya (2005) os dez alimentos mais ricos em carotenoides são folhas como caruru, mentruz, taioba, serralha, folha de capuchinha, coentro, salsa, agrião, rúcula e a hortelã. Sendo em nosso estudo encontrado carotenoides na hortelã comum.

Alguns trabalhos mostram que o cozimento pode causar perdas (CAMPOS et al., 2003; GAYATHRI et al., 2004), enquanto outros estudos encontraram que as perdas foram inexistentes ou houve aumento da

concentração de carotenoides, mesmo com a correção de peso, utilizando o cálculo da retenção real (GRANADO et al., 1992; HART e SCOTT, 1995). O aumento na concentração de  $\beta$ - caroteno na hortelã desidratada, pode ser atribuído a uma maior facilidade de extração, pelo fato do tratamento térmico desnaturar complexos carotenoide-proteína existentes nas células vegetais e inativar enzimas oxidativas (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

A concentração de vitamina C não diferiu entre a hortelã fresca e desidratada ( $p>0.05$ ) e observou-se perda expressiva desta vitamina após o processamento (35,35% de retenção). No estudo de Freitas e Navarro (2007), a *Camelia sinensis* (chá verde) apresentou 250,00 mg.100g<sup>-1</sup> de vitamina C nas folhas, muito maior que o encontrado na hortelã comum que avaliamos.

A concentração dos diferentes componentes da vitamina E não diferiu entre a hortelã fresca e desidratada ( $p>0.05$ ). Houve predominância de  $\alpha$ -tocoferol na erva fresca e de  $\alpha$ -tocotrienol na desidratada. Destaca-se a importância do  $\alpha$ -tocoferol, por ser o componente de maior atividade biológica, apontado como sendo o mais potente em ação antioxidante além de desempenhar papel na inibição de enzimas, função estrutural e síntese de hormônios (AZZI e STOCKER, 2000; IOM, 2000).

Alguns estudos apontam o espinafre como uma boa fonte de vitamina E, com valores de  $\alpha$ -tocoferol variando de 1,22 a 1,8 mg.100g<sup>-1</sup> (PIIRONEN et. al., 1986; AZZI e STOCKER, 2000), concentração similar apresentada em 100 g da hortelã comum fresca. O  $\alpha$ -tocotrienol apresentou excelente retenção (83,93%) na hortelã desidratada, enquanto a retenção de  $\alpha$ -tocoferol na erva desidratada foi de apenas 19,72%, indicando perda expressiva desse componente.

É importante ressaltar que as informações sobre a concentração de vitamina E em ervas e fitoterápicos são muito escassos. Dessa forma, esse é um diferencial do presente estudo, ao trazer a concentração de vitamina E em uma erva comum para população brasileira.

Em nosso estudo, as concentrações de luteína não diferiram entre as infusões ( $p>0.05$ ). O  $\beta$ -caroteno foi quantificado apenas na infusão gelada. Concentrações similares de  $\beta$ -caroteno foram relatados por Gualberto et. al. (2015) em chá de *Moringa oleífera L* (moringa) preparado com folhas frescas e desidratadas.

As concentrações de vitamina C entre as infusões de hortelã, não apresentaram diferença ( $p > 0.05$ ) (Tabela 2), sendo que a concentração dessa vitamina reduziu em relação as ervas, especialmente após o aquecimento, o que pode ser justificado pela sensibilidade da mesma a altas temperaturas.

**Tabela 2:** Concentração de carotenoides e vitamina C nas infusões quente e gelada de Hortelã

Compostos	Infusão gelada	Infusão quente
Vitamina C ( $mg.100mL^{-1}$ ) <sup>1</sup>	0,725±0,686 <sup>a</sup>	0,283±0,245 <sup>a</sup>
Carotenoides ( $mg.100mL^{-1}$ ) <sup>*</sup>		
β-Caroteno	0,001(0,001-0,003) <sup>a</sup>	nd
Luteína	0,030(0,029-0,049) <sup>a</sup>	0,029(0,0028-0,030) <sup>a</sup>
Valor de vitamina A ( $\mu g.100mL^{-1}$ )	0,16	0

Dados expressos em base fresca como média de 3 repetições ± desvio padrão; nd: não detectado.

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para cada composto, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste t.

<sup>\*</sup>Mediana, mínimo e máximo – Teste não paramétrico Mann Whitney

O ácido ascórbico participa dos processos celulares de oxirredução, como também é importante na biossíntese das catecolaminas. Previne o escorbuto, é importante na defesa do organismo contra infecções e fundamental na integridade das paredes dos vasos sanguíneos (MANELA - AZULAY, et al., 2003).

### 3.3. Concentração de minerais e metais pesados na hortelã

Os minerais mais expressivos na hortelã foram o potássio ( $4970,00 mg.100^{-1}$ ) e o cálcio ( $896,67 mg.100^{-1}$ ). Observou-se que em uma porção de 5 g de hortelã desidratado, tem-se 248,50 mg de potássio. No estudo de Franco et al., (2011), a erva mais rica em potássio foi o chapéu-de-couro ( $3758,50 mg.100g^{-1}$ ) e a de menor concentração foi a camomila ( $752,33 mg.100g^{-1}$ ), sendo que a hortelã superou a quantidade no chapéu-de couro.

Em um estudo com diversas ervas, entre elas camomila (*Matricaria recutita L.*), capim-cidreira (*Cymbopogon citratus Stapf*), menta (*Mentha piperita L.*) e poejo (*Mentha pulegium*), Andrade, Alves e Takase, (2005), quantificaram

ferro, cobre e zinco nessas plantas, sendo que a concentração de ferro da hortelã desidratada em nosso estudo foi muito maior. Já em relação ao zinco, a camomila apresentou 4,17, a erva cidreira 1,63, a hortelã pimenta 2,82 e o poejo 3,67 ( $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ), concentrações próximas ao observado em nosso estudo para hortelã desidratada. Quanto ao cobre os mesmos autores encontraram (em 100g) 1,12 mg na camomila, 1,22 mg na erva cidreira, 1,51 mg na hortelã pimenta e 1,36 mg no poejo, concentrações similares à encontrada na hortelã desidratada comum que analisamos.

A concentração de cromo, em 5 g de hortelã desidratada comum foi de 9,5  $\mu\text{g}$ . Na investigação realizada por Franco et al., (2011) não foi detectado cromo em nenhuma das plantas estudadas (camomila, carqueja, calêndula, chapéu-de-couro, erva-de-são-joão e pata-de-vaca).

Em relação aos demais minerais encontrados na hortelã, em 100 g da mesma, encontrou-se 356,67 mg de magnésio, 896,67 mg de cálcio, 25,52 mg de manganês, 386,67 mg de fósforo. Araújo et. al. (2011) destacam que o cálcio e o magnésio são comumente encontrados em hortaliças e ervas, sendo essenciais para o desenvolvimento das mesmas (FAQUIN e ANDRADE, 2004). Bertol, Almeida e Almeida (2015), encontraram na hortelã pimenta 1,90  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de cálcio, 2,06  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de manganês e 0,28  $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$  de fósforo, valores muito menores que os encontrados em nosso estudo para hortelã desidratada.

Segundo Corrêa et al. (2002), a adubação fosfatada é uma prática comum e ocorre adição de zinco à estas fórmulas (particularmente em regiões de deficiência), ocasionando interação entre potássio e zinco, que afeta positivamente o acúmulo de cálcio, ferro, cobre e manganês nas folhas da planta.

Em nosso estudo foi encontrado 0,021 mg de de chumbo (Pb), considerando-se 5 g da erva. Esse metal pesado é o contaminante ambiental mais comum, sendo absorvido pelo organismo por via inalatória ou oral (BRUNKEN et al., 2002; OLGA, 2003). No entanto, os valores limites de tolerância de chumbo em alimentos prontos para consumo, estabelecidos pela Portaria nº 685 de 27/08/1998, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, variam de 0,05 a 2  $\text{mg}\cdot \text{Kg}^{-1}$  de alimento. Diante disso, a quantidade de chumbo encontrada na hortelã está acima do ideal, apresentando 4,2  $\text{mg}\cdot \text{Kg}^{-1}$ .

**Tabela 3:** Concentração de minerais e metais pesados em hortelã desidratada.

<b>Minerais</b>	<b>Concentração (mg/100<sup>-1</sup>)*</b>
Fósforo (P)	386,67±5,77
Potássio (K)	4970,00±317,95
Cálcio (Ca)	896,67±15,28
Magnésio (Mg)	356,67±5,77
Enxofre (S)	336,67±15,28
Cobre (Cu)	1,14±0,03
Ferro (Fe)	77,47±0,19
Zinco (Zn)	3,09±0,05
Manganês (Mn)	25,52±1,04
Sódio (Na)	46,00±1
Cromo (Cr)	0,19±0,02
<b>Metais pesados</b>	<b>Concentração (mg/100<sup>-1</sup>)*</b>
Cádmio (Cd)	nd
Níquel (Ni)	nd
Chumbo (Pb)	0,42±0,01
Alumínio (Al)	1058,02±280,31

\*Dados expressos em matéria seca como média de 3 repetições (arredondados para duas casas decimais) ± desvio padrão. nd = não detectado

Os níveis de metais pesados, dentre eles o chumbo, no solo podem aumentar em virtude de intensas atividades de mineração no estado de Minas Gerais. Concentrações consideráveis de elementos tóxicos podem penetrar no solo, águas subterrâneas e rios, conseqüentemente colocando em risco a saúde e o ambiente utilizados para piscicultura, pecuária e atividades agrícolas. Em virtude de inundações da bacia do rio Das Velhas, na região mineira, a água e os sedimentos contaminados com metais pesados e elementos tóxicos podem contaminar rios e solo a uma distância de cerca de 400 km (VEADO, et al., 2006).

As principais formas de contaminação das águas e solo por metais pesados são os fertilizantes e pesticidas utilizados na agricultura, a mineração, emissões veiculares, combustão de carvão e óleo, refinamento e incineração de resíduos urbanos e industriais (TAVARES e CARVALHO, 1992). Entretanto, Michie & Dixon (1977) relatam que as folhas de ervas, comumente usadas para preparo de infusões, possuem a capacidade de complexar metais tóxicos como o Pb e Cd e conseqüentemente reduzindo sua absorção.

Não foram encontrados níquel (Ni) e cádmio (Cd), indicando que não há contaminação desta erva com estes elementos, o que é importante, pois são considerados tóxicos. Quanto ao alumínio, numa porção de 5 g da erva se encontrou-se 52,90 mg, constatando-se que ao ingerir essa quantidade de

hortelã na forma de condimento, pode-se ultrapassar muito a recomendação segura. De acordo com Soliman e Zikovsky (1999) a ingestão dietética de Al não deveria exceder 6 mg/dia. Estudo realizado por Soni et al. (2001) afirma que a maioria dos alimentos não processados contém menos de 10 mg.kg<sup>-1</sup>, exceto alguns grãos e muitos temperos, ervas e chás que podem acumular até 4 g.kg<sup>-1</sup> de alumínio; contudo, na hortelã se observou mais que o dobro dessa quantidade (10,58 g.kg<sup>-1</sup>).

Santiago et al. (2011) pesquisaram plantas medicinais em solo contaminado e concluíram que o solo onde as espécies vegetais destinadas à medicina tradicional são plantadas, contaminam as mesmas e produtos delas derivados, podendo causar problemas a saúde, em virtude do consumo excessivo dos metais.

Por fim, ressalta-se que o tipo e as condições do solo (teor de matéria orgânica, local de origem, pH e fertilidade), a espécie e cultivar da planta, o tipo e a quantidade de agroquímicos (fertilizantes e agrotóxicos), a forma de cultivo e os tratamentos pós-colheita (armazenamento e transporte) são fatores responsáveis pela variação do conteúdo de elementos tóxicos (metais) em alimentos e plantas. Desta forma, mais pesquisas devem ser realizadas para esclarecer sobre o conteúdo de minerais e metais pesados em ervas e especiarias (SANTIAGO, et al., 2011).

#### **3.4. Flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante na hortelã**

Em nosso estudo identificamos na hortelã comum o eriodictiol, naringenina, apigenina e luteolina indo de encontro ao mostrado por Kosar et al., (2004), em que os mesmos compostos foram identificados em hortelã de diferentes espécies, dentre elas a *M. spicata*. Não houve diferença significativa nas concentrações de nenhum dos flavonoides estudados entre forma fresca ou desidratada do hortelã em nosso estudo. As concentrações de flavonoides totais na hortelã do presente estudo foram semelhantes ao relatado por Abreu (2013) em banchá (tipo de chá verde nas refeições orientais) e menores que o encontrado para carqueja, erva mate e hortelã japonesa. Moraes-de-Souza et al. (2005) relatam que os principais componentes da maioria das especiarias e condimentos consumidos no Brasil são os flavonoides.

No presente trabalho a concentração de fenólicos totais se mostrou menor que a observada no estudo de Benabdallah et al. (2016) em várias espécies de hortelã, apresentando a *M. aquática* maior concentração (423,21 mg.100g<sup>-1</sup>), concentração média na *M. piperita* (314,00 mg.100g<sup>-1</sup>) e menor na *M. villosa* (140,66 mg.100g<sup>-1</sup>), entretanto, esse estudo não avaliou a mesma espécie do nosso.

Os compostos fenólicos são comumente encontrados em ervas e especiarias e são potentes antioxidantes, agindo como quelantes de metais e sequestradores de radicais livres (JAYASHINGHE et al., 2003).

Quanto à capacidade antioxidante, não foi observada diferença significativa entre as ervas fresca e desidratada (Tabela 4). A capacidade antioxidante apresentada pela hortelã em ambos processamentos em nosso estudo, foi similar ao indicado por Abreu (2013), que sugeriu que a carqueja, camomila e erva doce possuem boa capacidade antioxidante.

De acordo com Oliveira (2015), a temperatura e tempo de armazenamento são importantes fatores relacionados à preservação dos flavonoides e propriedades funcionais durante a vida de prateleira do alimento, podendo esses fatores levar a perda de flavonas e flavanonas devido a menor estabilidade desses componentes e conseqüentemente diminuição da capacidade antioxidante após o aquecimento.

Não foi possível realizar a quantificação dos flavonoides nas infusões, uma vez que apenas traços dos mesmos foram encontrados. Sugere-se então, duas alternativas para o comportamento dos mesmos, uma transferência extremamente reduzida dos flavonoides da hortelã desidratada para as infusões; ou uma perda muito drástica na concentração de flavonoides no preparo dos chás. Diferentemente de nosso estudo, Abreu (2013) encontrou flavonoides nos chás de hortelã, erva mate, carqueja e marcela.

Diversos fatores influenciam a qualidade dos chás e as concentrações de seus compostos bioativos, dentre eles as práticas agrônômicas e tempo de infusão (LIMA et al., 2004), sendo esta última uma hipótese viável para explicar o comportamento apresentado pelos chás, podendo ter ocorrido uma transferência baixa de flavonoides da erva para as infusões em virtude do tempo de infusão utilizada no estudo.

**Tabela 4:** Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante na hortelã comum fresca e desidratada

<b>Compostos</b>	<b>Erva fresca</b>	<b>Erva desidratada</b>	<b>Retenção Real (%)</b>
<i>Flavonas (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
Luteolina	109,00±19,00 <sup>a</sup>	79,00±41,00 <sup>a</sup>	12,42
Apigenina	37,80±13,10 <sup>a</sup>	21,00±7,20 <sup>a</sup>	9,52
<i>Flavanonas (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>			
Eriodictiol	3,10±1,10 <sup>a</sup>	7,10±4,30 <sup>a</sup>	39,24
Naringenina	nd	12,00±5,20 <sup>a</sup>	-
<i>Flavonoides Totais (mg.100g<sup>-1</sup>)</i>	1,33±0,10	1,68±0,88	
<i>Fenólicos totais (mg.GAE.100g<sup>-1</sup>)</i>	87,31±12,73 <sup>a</sup>	74,73±24,40 <sup>a</sup>	15,47
%AAR	80,58±12,04 <sup>a</sup>	59,60±24,80 <sup>a</sup>	

Dados expressos em base fresca como média de 3 repetições ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, para cada composto, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste t.

nd: não detectado; %AAR: atividade retirada de radical

As concentrações de compostos fenólicos totais nos chás, obtidas neste trabalho, foram muito menores que a relatada por Moraes-de-Souza (2007) que encontrou 77,30 mg. 100g<sup>-1</sup> no chá obtido da hortelã fresca. Lima et al. (2004) ressalta que essas variações dependem do tempo de infusão.

Dentre os benefícios dos compostos fenólicos, está sua ação como antifúngico e antibacteriano, inibindo o crescimento de uma variedade de microrganismos. Assim, é interessante o consumo das ervas por meio da alimentação, uma vez que essa ação foi detectada em algumas plantas medicinais, ervas e temperos da família *Lamiaceae* (CANSIAN, et al. 2007).

A capacidade antioxidante não diferiu entre as infusões quente e gelada de hortelã (p>0,05) (Tabela 5) e foi menor que a relatada por Moraes- Souza, (2007) na infusão de *M. arvensis* (70,83 %) pelo mesmo método de nosso estudo.

**Tabela 5:** Concentração de flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante das infusões de hortelã quente e gelada

<b>Compostos</b>	<b>Infusão gelada</b>	<b>Infusão quente</b>
<i>Flavonas (mg.100mL<sup>-1</sup>)</i>		
Luteolina	nd	nd
Apigenina	nd	nd
<i>Flavanonas (mg.100mL<sup>-1</sup>)</i>		
Eriodictiol	nd	nd
Naringenina	nd	nd
<i>Fenólicos totais (mg.GAE/100mL<sup>-1</sup>)</i> <sup>1</sup>	1,65±0,55 <sup>a</sup>	2,00±0,50 <sup>a</sup>
<i>%AAR</i> <sup>1</sup>	55,44±19,45 <sup>a</sup>	75,57±22,86 <sup>a</sup>

Dados expressos em base fresca como média de 3 repetições ± desvio padrão.

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste t.

nd: não detectado; %AAR: atividade retirada de radical.

A concentração de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante das ervas e infusões podem sofrer alterações em suas concentrações, em virtude da colheita, da parte da planta utilizada, da característica do solo, do beneficiamento, da temperatura, do tempo de infusão, do solvente e dentre outros (MOURE et al., 2001).

### **3.5. Potencial de contribuição do alecrim e suas infusões para o atendimento das recomendações de vitaminas e minerais**

Baseando nas *Dietary Reference Intake* (DRI), Phillipi (2004) classifica os alimentos como "fontes" de algum nutriente quando suprem de 5 a 10% das recomendações diárias, "boas fontes" quando suprem de 10 a 20% da DRI e "excelentes fontes", quando atendem mais de 20%.

Diante disso, comparando-se os valores de necessidades diárias de minerais e vitaminas com a ingestão de 5 g/dia (Tabela 6) de hortelã desidratada, na forma de condimento, atinge-se 6,85% da necessidade nutricional de magnésio, sendo fonte do mineral e 12,44% e 12,12% das recomendações dietéticas diárias de potássio e vitamina A, respectivamente, sendo boa fonte desses nutrientes.

As concentrações de ferro, manganês e cromo na porção de 5 g de hortelã desidratada ultrapassam 20% da recomendação diária desses minerais, sendo considerada a erva excelente fonte desses, destacando-se o manganês, que pode contribuir mais de 50%. Assim, o consumo da hortelã para temperar saladas, carnes ou ser adicionada a sucos de frutas, pode ser uma ótima opção para se adequar a ingestão desses minerais na dieta.

**Tabela 6:** Potencial de contribuição da hortelã para o suprimento das recomendações diárias de minerais e vitaminas.

Compostos	Potencial de contribuição (%)			
	Hortelã fresca (porção de 5g)	Hortelã desidratada (porção de 5g)	Infusão quente (porção de 2g)	Infusão gelada (porção de 2g)
Vitamina A*	1,70	12,12	0	0,027
Vitamina C*	0,12	0,27	0,63	1,61
Vitamina E*	0,88	3,28	-	-
Fósforo (P)**	-	2,77	-	-
Potássio (K)**	-	12,43	-	-
Cálcio (Ca)*	-	4,50	-	-
Magnésio (Mg)*	-	6,85	-	-
Cobre (Cu)**	-	0,01	-	-
Ferro (Fe)*	-	27,67	-	-
Zinco (Zn)*	-	2,20	-	-
Manganês (Mn)**	-	55,47	-	-
Sódio (Na)**	-	0,12	-	-
Cromo (Cr)**	-	27,14	-	-

\*Quantidade usualmente comercializada na forma de condimento (5g) e em sachês para chá (2g)

\*Calculado com base FAO/OMS. Human Vitamin and Mineral Requirements. In: Report 7 Joint FAO/OMS Expert Consultation, Bangkok, Thailand, 2001. Xxii + 286p.

\*\*Calculado com base Insitute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes. National Academic Press, Washigton D. C., 1999-2001.

- : Não foram realizadas análises de minerais e vitamina E nesses tratamentos

Dentre os minerais de maior concentração na hortelã desidratada e os inúmeros benefícios a saúde, sabe-se que o potássio atua regulando o funcionamento do sistema muscular e os batimentos cardíacos. O ferro é

essencial para a prevenção da anemia, sendo componente das moléculas de hemoglobina, mioglobina, citocromo e cofator de sistemas enzimáticos, desempenhando papel essencial no transporte de oxigênio e respiração celular. E o manganês é cofator ou integrante de sistemas enzimáticos de inúmeras reações em nosso organismo (OLGA, 2003).

Quanto ao cálcio, fósforo, zinco, cobre, vitamina C e E, a hortelã desidratada pode contribuir com 4,50%, 2,70%, 2,20%, 0,01%, 0,25% e 3,28% respectivamente, das necessidades nutricionais diárias, não sendo, portanto fontes desses nutrientes.

Outro mineral importante é o cromo, que potencializa os efeitos da insulina, melhorando o metabolismo de macronutrientes, aumentando a captação de aminoácidos, estimulando a lipogênese e a sensibilidade a insulina (GOMES, ROGERO, TIRAPGUI, 2005). Sua ingestão dentro dos limites de segurança (até 800 µg/dia) é importante, uma vez que não se sabe exatamente seus efeitos nocivos (OMS, 1998). O cromo compete com o ferro pela ligação da transferrina, desse modo, uma ingestão elevada do mesmo pode ser um fator negativo no estado nutricional relativo ao ferro (TRUMBO, et al., 2001).

As infusões quente e gelada (porção de 2 g para preparo de 100 mL), as concentrações de vitaminas A e C foi muito reduzida, não podendo ser considerados fontes e não contribuindo de maneira significativa para o alcance das recomendações nutricionais dessas vitaminas.

Entretanto, em virtude dos efeitos benéficos da bebida chá relatados na literatura, na redução do colesterol plasmático, auxílio no controle da hipertensão arterial, redução do risco de câncer, entre outros (STAVRIC, 1994; KONO, et al., 1997) e em virtude do aumento no consumo das infusões e interesse pela descoberta de princípios ativos e funções dos chás, vê-se que os mesmos podem trazer benefícios a saúde e seu consumo deve ser estimulado.

#### **4. CONCLUSÃO**

A erva apresentou elevada concentração de umidade e baixa de proteína, lipídios e fibras. Não foram observadas diferenças significativas quanto às concentrações de β-caroteno e vitamina C entre ervas e entre os chás. A concentração de luteína foi maior na hortelã fresca e apresentou baixo

percentual de retenção na erva desidratada. Não foi observada diferença significativa entre as concentrações de vitamina E, compostos fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante da erva na forma fresca e desidratada e entre os chás. Em relação a capacidade antioxidante e fenólicos nos chás não se observou diferença significativa. A ingestão de 5g de hortelã desidratado pode contribuir de forma relevante para se atingir as recomendações diárias de potássio, ferro, magnésio, manganês, cromo e alumínio. A hortelã desidratada se destacou como fonte de magnésio, boa fonte de potássio e vitamina A e excelente fonte de ferro, cromo e manganês. Dessa forma, a erva pode contribuir para a ingestão adequada de nutrientes e compostos bioativos, devendo seu consumo ser incentivado.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conhecer o valor nutricional de ervas, especiarias e chás é de grande importância uma vez que elas podem contribuir com a ingestão de nutrientes e compostos bioativos essenciais para a saúde e, a partir desses estudos, é possível incentivar e orientar o consumo das mesmas.

Os resultados mostraram que as ervas apresentaram bom valor nutricional, sendo observada em sua composição a presença de macro e micronutrientes. O alecrim desidratado se mostrou fonte de potássio, cobre e vitamina E, boa fonte de ferro e magnésio, excelente fonte de cromo, alta concentração de alumínio e boa capacidade antioxidante. O manjericão desidratado se mostrou fonte de cobre, manganês e cálcio e boa fonte de ferro, potássio, cromo e vitamina A. A hortelã destacou-se como fonte de magnésio, boa fonte de potássio e vitamina A e excelente fonte de ferro, cromo e manganês. Em relação aos chás das ervas eles apresentaram quantidades reduzidas de vitamina C e A.

Essas ervas constituem uma alternativa de condimentos no preparo de saladas, carnes e outros alimentos, reduzindo o consumo de sódio e melhorando o valor nutricional dos alimentos e agregando características sensoriais agradáveis. Estudos futuros são necessários para explorar a concentração de nutrientes das ervas e chás, conhecer os fatores antinutricionais presentes nas mesmas e investigarem estratégias para a redução desses fatores, visando à manutenção das características nutricionais das ervas, além de identificar a melhor forma de consumo e que forneçam maior concentração de nutrientes.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. **Estudo do poder antioxidante de infusões de ervas utilizadas como chás**. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria – RS, Brasil, 2013. 88p.

ALMEIDA, D. M. et. al. Teores de óleo essencial e flavonóides totais em amostras de *Rosmarinus officinalis* L. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 91. n. 4, p. 170-5, 2010.

ALVAREZ V., V.H. et al. **Métodos de análises de enxofre em solos e plantas**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 131p.

AMBROSIO, C.L.B. et al. Carotenoids as an alternative against hypovitaminosis A. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 2, 2006.

ANDRADE, É. C. B. de; ALVES, S. P.; TAKASE, I. Extração seqüencial de cobre, ferro e zinco em ervas medicinais. **Ciência Tecnologia Alimentação**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 844-848, Dec. 2005.

ANVISA. FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo. Atheneu. 2005.

ARAÚJO, M.J.A.M. et. al. Efeito do tratamento com própolis de *Scaptotrigona aff. postica* sobre o desenvolvimento do tumor de Ehrlich em camundongos. Elsevier, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v.20, n.4, p.580-587, 2011.

AZZI, A.; STOCKER, A. **Vitamin E: non – antioxidants roles**. Progress Lipid Research, v. 39, p. 231-55, 2000.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BENABDALLAH, A. et. al. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, p. 1-7, 2016.

BERTOL, A.; ALMEIDA, S. M. Z.; ALMEIDA, L. P. Determinação de minerais em algumas plantas medicinais utilizadas em xanxerê – oeste catarinense. **Unoesc & Ciência** - ACBS Joaçaba, v. 6, n. 1, p. 53-58, jan./jun. 2015.

BLOOR, S. J. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. In: LESTER, P. (Ed.). *Methods in Enzymology*: Academic Press, v. Volume 335, 2001. p.3-14.

BRAGA, J.M. & DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica do fósforo em extrato de solo e plantas. **R. Ceres**, v. 21: p. 73-85, 1974.

BRAHMI, F. et al. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 722-730, 2015.

BRUNKEN, G. S.; GUIMARÃES, L. V.; FISBERG, M. Anemia em crianças menores de 3 anos que frequentam creches públicas em período integral. **Jornal de Pediatria**, v. 78, p. 50-56, 2002.

BUCHHOLZ, A. C.; SCHOELLER, D. A. Is a calorie a calorie? The American **Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 899-906, May, 2004.

CAMPOS, F. M. Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara v.19, n.4, p. 481-490, out./dez. 2008.

CAMPOS, F. M. et al. Optimization of methodology to analyze ascorbic and dehydroascorbic acid in vegetables. **Química Nova** [S.l.], v. 32, p. 87-91, 2009.

CAMPOS, F.M. Vegetais folhosos preparados em restaurantes comerciais de Viçosa-MG. **Brazilian Journal Food Technology**, v.6, n. 2, p. 163-169, 2003.

CANSIAN, R. L. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleo essencial de *Origanum vulgare* em linguiça. **Brazilian Journal Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 4, 2007.

CARDOSO, L. M et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. **Food chemistry**, v. 152, p. 210-217, 2014.

CORRÊA, F. L. et. al. Acúmulo de nutrientes em mudas de aceroleira adubadas com fósforo e zinco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 765-769, 2002.

CURUTCHET, et. al. Nutrition and sensory quality during refrigerated storage of fresh-cut mints (*Mentha x piperita* and *M. spicata*). **Food Chemistry**, v. 143, p. 231–238, 2014.

DAMIANI, E et al. Antioxidant activity of different white teas: Comparison of hot and cold tea infusions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, n. 1, p. 59-66, 2014.

DYKES, Linda et al. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 313-317, 2009.

FAQUIN, V.; ANDRADE, A.T. **Produção de Hortaliças: Nutrição Mineral e Diagnóstico do Estado Nutricional das Hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. 88p.

FERREIRA, A.L.A. & MATSUBARA, L.S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**. São Paulo, v.43, n.1, p. 61-68. 1999.

FRANCO, M. J.; CAETANO, I. C. S.; CAETANO J.; DRAGUNSKI, D. C. Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama-PR. **Arquivos Ciência Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 121-127, maio./ago. 2011.

FREITAS, H. C. P.; NAVARRO, F. O chá verde induz o emagrecimento e auxilia no tratamento da obesidade e suas comorbidades. **Revista Brasileira de**

**Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, São Paulo v. 1, n. 2, p. 16-23, Mar/Abr, 2007.

GAYATHRI, G.N. et al. Influence of antioxidant spices on the retention of  $\beta$ -carotene in vegetables during domestic cooking processes. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p.35-43, 2004.

GOMES, M. R.; ROGERO, M. M. TIRAPEGUI, J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. **Revista Brasileira Medicina do Esporte**, v. 11, n. 5, Set/Out, 2005.

GRANADO, F. J. et al. Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetables. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.40, n.11, p.2135-2140, 1992.

GUALBERTO, N. C. et al. Avaliação dos compostos bioativos presentes na infusão do chá de flor de Moringa oleífera L. seca e *in natura*. **Revista Tecnológica**, p. 265-273, 2015.

HART, D. J.; SCOTT, K. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chemistry**. v. 54, n. 1, p. 101-111, 1995.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM - U.S). **Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes: for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Cromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenium, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc**. Washington, D.C., National Academy Press, 2001, 797p.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM-U.S.). **Food and Nutrition Board. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, D.C., National Academy Press. 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares – POF 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil/ IBGE, Coordenação de trabalho e rendimento**. Rio de Janeiro, 2011. 150 p.

JAYASINGHE, C. et al. Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 4442-4449, 2003.

JOLY, A. B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002. 777 p. **Biblioteca Universitária, série. ESSE MUDAR LA TA** 1998.

KOBORI, C.N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Native Brazilian green leafy vegetables are richer sources of carotenoids than commercial leafy vegetables. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 29, p. 333-341, 2008.

KONO, Y. et al. Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1335, p. 335-342, 1997.

KOSAR, M. et al. Screening of free radical scavenging compounds in water extracts of *Mentha* samples using postcolumn derivation method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 52, n. 16, p. 5004-5010, Aug. 2004.

LAWRENCE, B. M. **Mint: the genus *Mentha***. Boca Raton, FL.: CRC Press, pp. 333. 2007.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiros. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 7, n. 2, p. 187-190, jul/dez, 2004.

MANELA-AZULAY, M. et al. Vitamina C. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 3, p. 265-272, June 2003.

MICHIE, N.D., DIXON, E.J. Distribution of lead and other metals in tea leaves, dust and liquors. **Journal Science Food Agriculture**, London, v.28, p.215-224, 1977.

MORAES-DE-SOUZA, R. A. **Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil**. ESALQ, Dissertação de Mestrado em Ciências, Piracicaba – SP, p. 6-0, 2007.

MORAIS, N.M.T. et al.. Estudo inorgânico analítico de plantas medicinais. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v. 44, n. 4, p. 14-19, 1995.

MOURE, A. et. al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145-171, Feb, 2001.

NINOMIA, L.; GODOY, H.T. Comparison of the carotenoid composition and vitamin A value of hydroponic and conventionally produced leaf vegetables. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, no prelo, 2008.

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL, 16<sup>TH</sup> Edition, Volume II, Section 45.4.07, **Method**, 985.29 (1997).

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL, 16<sup>TH</sup> Edition, Volume I, Section 12.1.07, **Method**, 960.52 (2005).

OLGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

OMS. Organização Mundial da Saúde. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva. WHO. 1998.

PEDRO, F.G.G. et al. Composição centesimal e mineral de plantas medicinais comercializadas no mercado do Porto de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.297-306, 2016.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e dietética**. Barueri: Manole, 2004.

PIIRONEN, et al., Tocopherols and tocotrienols in finnish foods: vegetables fruits, and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, p. 742-46, 1986.

PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8496-8502, 2011.

PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. et al. Evaluation of total carotenoids, alfa and beta-carotene in carrots (*Daucus carota* L.) during home processing. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 39-44, 1998.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. **A guide to carotenoid analysis in foods**. ILSI press. Washington D. Washington DC, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. Carotenoid changes in ripening *Momordica charantia*. **Annals of Botany**, v. 40, p. 615-624, 1976.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. **Journal of Food Composition and analysis**, v. 18, n. 8, p. 739-749, 2005.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin a carotenoids in prepared processed and stored foods**. Washington, DC: OMNI, 1997. 88p.

ROGINSKY, V.; L, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 235-254, 2005.

SALINAS, R. Alimentos e Nutrição. **Introdução à Bromatologia**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

SANTIAGO, D. M. et al. Teores de cádmio, chumbo e zinco em plantas medicinais cultivadas em solos contaminados. **PERQUIRERE Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão**. Patos de Minas, v. 1, n. 8, p. 195-202, jul. 2011.

SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. **Análise química de plantas**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 56p. 1974.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1995. 166 p.

SINGH, et. al. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, p. 322-328, 2015.

SOLIMAN, K., ZIKOVSKY, L. (1999). Concentrations of Al in food sold in Montreal, Canada, and its daily dietary intake. **Journal Radional Nuclear Chemistry**, v. 242, n. 3, p. 807-809, 1999.

SONI M. G. Safety evaluation os dietary Aluminium. **Regulatory Toxicology Pharmacology** v. 33, p. 66-79, 2001.

STAVRIC, B. Role of chemoprevents in human diet. **Clinical Biochemistry**, v. 27, n. 5, p. 319-332, 1994.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos/** NEPA-UNICAMP. – Versão II. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. 105p.

TAVARES, C. A.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid Composition of Brazilian Tomatoes and Tomatoes Products. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 27, p. 219-224, 1992.

TRUMBO P. et al. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. **Journal American Dietetic Association**, v. 101: p. 294-301, 2001.

TUCKER, A. O.; NACZI, R. F. C. ***Mentha: na overview of its classification and relationships***. 2007.

TURKOGLU, S. Assessment of wild mint from Tunceli as source of bioactive compounds, and its antioxidant Activity. **Cell Molecular Biology**. v.19, n. 61 p. 63-8, 2015.

VEADO, M. A. Metal pollution in the environment of Minas Gerais. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 117, n. 1-3, p. 157-72, Jun 2006.

WILSON, M. **“Figuring Out Fiber”**. Fact Sheet 99-19, Las Vegas, University of Nevada Cooperative Extension, 2p. 2009.

YANG, Liyi et al. Sorghum phenolics demonstrate estrogenic action and induce apoptosis in nonmalignant colonocytes. **Nutrition and cancer**, v. 64, n. 3, p. 419-427, 2012.

ZIELINSKI, A. A. F. et al. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. **Journal of food science**, v. 79, n. 4, p. C510C516, 2014.

