EFEITO DAS CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE *Melissa officinalis*

Jéssica Pinto Mauda (BIC/FA), Ana Carolina Mendes Hacke, José Carlos Rebuglio Vellosa, Cássia Gonçalves Magalhães (Orientador), e-mail: cgmagalhaes@uepg.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa / Departamento de Química.

Área do conhecimento: Química
Subárea do conhecimento: Química Orgânica
Palavras-chave: Polifenóis, plantas medicinais, estabilidade.

Resumo

A planta *Melissa officinalis* é amplamente utilizada na forma de chá, para aliviar distúrbios do sono e desordens gastrointestinais. Esses e outros efeitos farmacológicos podem estar associados aos compostos bioativos e a atividade antioxidante da planta. Porém, estes compostos apresentam estabilidade limitada frente às condições de armazenamento dos extratos brutos. Desta forma, considerando que as condições de armazenamento dos extratos influenciam no teor de composto fenólicos, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o teor de polifenóis e atividade antioxidante e comparar a estabilidade de diferentes extratos de *Melissa officinalis* sob diferentes métodos de armazenamento. De maneira geral o tempo de armazenamento reduziu ligeiramente o teor de polifenóis e atividade antioxidante dos extratos aquosos.

Introdução

A planta *Melissa officinalis,* pertencente à família Lamiaceae, é popularmente conhecida como erva-cidreira, melissa, cidreira, citronela-meno. Esta planta é originária do Mediterrâneo e é utilizada na forma de chá ou infusão no tratamento de transtornos gastrointestinais e distúrbios do sono (SHAKERI; SAHEBKAR; JAVADI, 2016). Além disso, alguns estudos da literatura demonstraram seus efeitos antitumoral e neuroprotetor e pode ser empregada no tratamento de doenças cardiovasculares e respiratórios (DE SOUSA et al., 2004). Estes efeitos estão, em parte, relacionados aos compostos fenólicos e flavonoides presentes na planta, que têm ação antioxidante (PEREIRA et al., 2009; MARONGIU et al., 2004). Estudos farmacológicos demonstraram que a *M. officinalis* exibe diversas propriedades biológicas, que incluem atividade antimicrobiana, anticâncer, ansiolítica e anti-inflamatória (SHAKERI; SAHEBKAR; JAVADI, 2016).

Um problema frequentemente levantado por pesquisadores na área de produtos naturais, refere-se à estabilidade dos compostos presentes nos extratos provenientes das plantas medicinais. Alguns estudos demonstraram que estes compostos químicos são sensíveis à luz e a temperaturas elevadas, o que consequentemente pode acarretar na diminuição da atividade antioxidante da planta (MOLDOVAN; POPA; DAVID, 2016). Desta forma, a temperatura em que estes extratos são armazenados pode afetar a estabilidade dos compostos presentes, visto que temperaturas relativamente altas podem favorecer a sua degradação. Além disso, estudos sugerem que a temperatura ideal para o armazenamento deve ser inferior a 23°C e preferencialmente a 4°C para os extratos de plantas (CHEN; LIN, 2007). Neste contexto, considerando a atividade antioxidante da *M. officinalis* e os poucos estudos referentes à estabilidade dos compostos químicos presentes nos seus extratos brutos, o objetivo do presente estudo foi comparar a composição

química e a atividade antioxidante dos extratos aquosos liofilizados obtidos a partir das folhas de *M. officinalis* empregando diferentes condições de armazenamento.

Material e Métodos

Inicialmente, os extratos foram obtidos a partir da infusão da planta seca em água fervente durante 15 minutos, em seguida os extratos foram filtrados e partiram para o processo de liofilização realizada no C-LABMU (Complexo de laboratórios multiusuário). Após foram acondicionados em frascos de vidro transparente (V.T) ou frasco âmbar (F.A), armazenados em geladeira (4ºC).

A avaliação do conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante foram realizados a cada 15 dias de armazenamento, onde os teores de compostos fenólicos e flavonoides totais dos extratos obtidos foram determinados utilizando o reagente Folin-Ciocalteau realizadas em triplicata onde conteúdo de compostos fenólicos foi determinado a partir de uma curva padrão de ácido gálico e a reação de complexação onde foi determinado a partir de uma curva padrão de quercetina, respectivamente. A atividade antioxidante dos extratos foi determinada através da medida da capacidade de inibição dos radicais $DPPH^{\bullet}$.

Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram apresentados como a média±desvio padrão. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA e as médias dos grupos foram comparadas pelo teste Student-Newman-Keuls e $p < 0,05$ foi considerado significativo em todos os casos. O programa GraphPad Prism 5.0 foi utilizado para as análises estatística.

Resultados e Discussão

A forma de armazenamento de extratos provenientes de plantas medicinais pode levar a alterações na composição química e, consequentemente na sua atividade antioxidante. Desta forma, a influência da forma de armazenamento de extratos aquosos liofilizados de *M. officinalis* no teor de polifenóis e na atividade antioxidante foram avaliadas. Na Tabela 1 estão apresentados os teores de compostos fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante por meio do método de DPPH dos extratos de *M. officinalis* armazenados em frasco âmbar (F.A) e vidro translúcido (V.T) sob refrigeração a 4ºC.

Tabela 1 – Teor de compostos fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante dos extratos aquosos liofilizados de *M. officinalis* armazenados em frasco âmbar e em vidro translúcido em tempos diferentes de armazenamento.

Tempo de armazenamento	Flavonoides (mg QER / g)*	Fenólicos (mg AG / g)*	DPPH CI_{50} ($\mu g\ mL^{-1}$)*
15 dias	3,97±0,80 (F.A) b 3,48±0,87 (V.T) b	32,08±0,42 (F.A) b 31,04±0,57 (V.T) b	14,73±1,11 (F.A) b 17,54±2,29 (V.T) b
30 dias	9,82±4,40 (F.A) a 9,04±2,81 (V.T) a	32,23±0,69 (F.A) b 32,91±0,55 (V.T) b	8,83±2,12 (F.A) b 12,30±4,16 (V.T) b
45 dias	2,98±1,51 (F.A) b 3,59±1,34 (V.T) b	13,16±0,23 (F.A) c 18,90±0,93 (V.T) c	16,36±4,82 (F.A) b 13,34±8,31 (V.T) b
60 dias	1,98±0,32 (F.A) b 2,90±0,67 (V.T) b	30,94±3,13 (F.A) b 31,74±1,52 (V.T) b	>10000 (F.A) > 10000 (V.T)
75 dias	4,29±0,44 (F.A) b 2,81±0,44 (V.T) b	29,46±1,79 (F.A) b 30,94±1,46 (V.T) b	19,67±5,60 (F.A) c 13,47±7,82 (V.T) b

ISSN 1676-0093

90 dias	10,12±3,65 (F.A) a 8,71±1,55 (V.T) a	25,93±2,47(F.A) b 25,99±2,20 (V.T) b	86,47±3,66 (F.A) d 142, 40±5,01 (V.T) d
105 dias	0,62±0,21 (F.A) c 0,74±0,26 (V.T) c	38,74±2,52 (F.A) a 37,58±1,35 (V.T) a	28,37±4,32 (F.A) c 36,24±5,67 (V.T) c
120 dias	0,70±0,21 (F.A) c 0,58±0,15 (V.T) c	36,74±2,52 (F.A) a 37,58±1,35 (V.T) a	16,8±2,91 (F.A) b 32,8±6,44 (V.T) c
135 dias	0,61±0,35 (F.A) c 0,28±0,80 (V.T) c	38,81±0,38 (F.A) a 38,34±0,88 (V.T) a	22,86±3,45 (F.A) c 23,73±9,21 (V.T) c
Ácido ascórbico	-	-	5,50±1,23 a

* Os dados estão apresentados como a média±desvio padrão (n=3).
Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente na mesma coluna (Newman-Keuls a p < 0,05).
FA: frasco âmbar; VT: vidro transparente; AG: ácido gálico; QER: quercetina.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, pode ser verificado que o extrato aquoso apresentou um alto teor de compostos fenólicos totais. Contudo, foi possível observar que os extratos aquosos exibiram um baixo teor de flavonoides totais. Quanto menor o valor de CI_{50}, maior é a atividade antioxidante de uma determinada amostra, visto que uma menor concentração dos compostos é necessária para inibir 50% da formação dos radicais DPPH. Além disso verificou-se uma alta atividade antioxidante no ensaio de DPPH devido ao seu baixo valor de CI_{50}.
A determinação do conteúdo de compostos fenólicos foi avaliada com o reagente de Folin-Ciocalteu. Neste caso, o produto da reação é um complexo de coloração azul, sendo que a intensidade da cor está relacionada com o número de hidroxilas ou de grupos oxidáveis no composto (SINGLETON et al., 1999). O teor de flavonoides por meio da complexação com o íon alumínio.
Além disso, a atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo método de DPPH, que é um radical estável de coloração púrpura que na presença de compostos com propriedades antioxidantes sofre uma descoloração, onde esta indica a capacidade do antioxidante em inibir o radical DPPH. Como esperado, foi observado que o ácido ascórbico exibiu uma alta atividade antioxidante neste ensaio.
Os dados contidos na Tabela 1 demonstraram que, de maneira geral, houve um leve aumento no teor de compostos fenólicos, onde este aumento provavelmente deve ter ocorrido em decorrência de interferência de algum contaminante na amostra. Desta forma, pode-se sugerir que a presença de luz não afetou a estabilidade destes compostos nos extratos no período em que estes foram analisados. No entanto, foi observado uma redução no teor de flavonoides totais nas duas formas em que estes extratos foram armazenados. Neste sentido, pode-se inferir que o tempo de armazenamento ocasionou a uma degradação destes compostos nos extratos. Além disso, de maneira geral, houve um aumento nos valores de CI_{50}, o que indicou uma redução na atividade antioxidante frente ao método de DPPH.

Conclusão

De maneira geral, pode-se concluir que o tempo de armazenamento dos extratos aquosos liofilizados de *M. officinalis* afetou ligeiramente o teor de compostos fenólicos, flavonoides e consequentemente atividade antioxidante analisada pelo método de DPPH no período de tempo empregado neste estudo. Além disso, a forma de armazenamento (em frasco âmbar ou em vidro translúcido) pareceu não diferir na influência sobre a estabilidade destes compostos. No entanto, outros

estudos em maiores faixa de tempo são necessários para que se possa chegar a uma conclusão a respeito da estabilidade destes compostos nestes extratos.

Agradecimentos
UEPG, Fundação Araucária.

Referências

CHEN, Y., LIN, K. Effects of heating temperature on the total phenolic compound, antioxidative ability and the stability of dioscorin of various yam cultivars. **Food Chemistry**, v. 101, p. 955-963, 2007.

DE SOUSA, A. C.; ALVIANO, D. S.; BLANK, A. F.;ALVES, P. B.; ALVIANO, C. S.; GATTASS, C.R. *Melissa officinalis* essential oil: antitumoral and antioxidant activities. **J. Pharm. Pharmacol.** v. 56; 677–681, 2004.

MARONGIU, B.; PORCEDDA, S.; PIRAS, A.; ROSA, A.; DEIANA, M.; DESSI, M. A. Antioxidant activity of supercritical extract of *Melissa officinalis* subsp. officinalis and *Melissa officinalis* subsp. Inodora. **Phytother Research,** v. 18, p. 789-92, 2004.

MOLDOVAN, B.; POPA, A.; DAVID. L. Effects of storage temperature in the total phenolic content of Cornelian Cherru (*Cornus mas L.*) fruits extracts. **J. Appl. Bot. Food Qual**. v. 89, p. 208-211, 2016.

PEREIRA, R. P.; FACHINETTO, R.; PRESTES, A. S.; PUNTEL, R. L.; SILVA, G. N. S.; HEINZMANN, B. M.; BOSCHETTI, T. K.; ATHAYDE, M. L.; BÜRGER, M. E.; MOREL, A. F.; MORSCH, V. M.; ROCHA, J. B. T. Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. **Neurochemical Research**, v. 34, p. 973-983, 2009.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTO, R. M. **Methods in Enzymology,** v. 299, p. 152-178, 1999.