

**Avaliação da composição química e bioativa de cultivares de  
*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym.**

**Elizandra Noely Grinfelder Ardohain**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de  
Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar, no âmbito da dupla diplomação com a  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

Orientado por:

**Lillian Barros**

**Ângela Fernandes**

**Gláucia Cristina Moreira**

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo Júri

Bragança

2020

Este trabalho é financiado pelo programa FEDER-Interreg España-Portugal, no âmbito do projeto 0377\_Iberphenol\_6\_E and TRANSCoLAB 0612\_TRANS\_CO\_LAB\_2\_P.



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à minha família, os quais amo incondicionalmente, **Oswaldo Castilhos Ardohain, Leandro Oliveira Lemes, Leonardo Ardohain, Glenda Giordano Grinfelder, Rosane Dall' Agnol, Pedro Mattos Grinfelder, Vera Giordano, Viviani Lemes, Josefina Lemes, e Zilda Lemes** que não mediram esforços para realização desse sonho e por todos os ensinamentos. Pela educação, motivação, companheirismo e principalmente por todo amor. Agradeço sobretudo a minha querida e muito amada **Aidê Oliveira Lemos** que já não está mais presente em vida, mas estará para sempre ocupando um espaço especial em meu coração.

Agradecimento especial aos meus orientadores: **Dra Lillian Barros** pela oportunidade, por todo conhecimento e auxílio transmitido, **Dra Ângela Fernandes** por sempre se fazer presente, acompanhar e auxiliar durante todo o desenvolvimento do trabalho, pela sua paciência, confiança e por não medir esforços em me ajudar, assim como toda equipe do Centro de Investigação de Montanha (CIMO). À **Dra. Gláucia Moreira**, professora da UTFPR de Medianeira, por toda motivação, incentivo e orientação durante este período. À professora Deisy Drunkler, que foi uma pessoa muito especial durante a minha graduação, me inserindo/motivando no meio científico.

Aos meus amigos que estão no Brasil e aos que estiveram em Portugal junto comigo nessa caminhada, e se fizeram família nos momentos entre os momentos bons e ruins, especialmente a **Thayna Almeida, Johicy Parra e Felipe Macedo** por todo apoio, companheirismo, motivação e carinho. Se fizeram fundamentais para realização dessa etapa de aprendizagem e crescimento pessoal.

Por fim, à Universidade Tecnológica Federal do Paraná e ao Instituto Politécnico de Bragança por terem disponibilizado a oportunidade de realizar este mestrado e por todo o apoio cedido, especialmente aos meus professores **Daiane Lenhard, Carolina Castilho Garcia, Fábio Bublitz Ferreira, Kátia Andrade e Valdemar Padilha**, os quais são pessoas incríveis, e sempre me incentivaram na jornada acadêmica.

**ÍNDICE**

<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>vi</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xvi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xvii</b>
<b>1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>18</b>
1.1.Plantas aromáticas.....	18
1.2.Família Apiaceae .....	19
1.2.1. <i>Petroselinum crispum (Mill.) Nym</i> .....	20
1.3.Composição nutricional e química .....	22
1.3.1. <i>Macronutrientes</i> .....	22
1.3.2. <i>Micronutrientes</i> .....	23
1.3.3. <i>Ácidos gordos</i> .....	24
1.3.4. <i>Ácidos orgânicos</i> .....	25
1.3.5. <i>Compostos fenólicos</i> .....	26
1.4. Propriedades bioativas, importância para a saúde e indústria alimentar.....	28
<b>2.OBJETIVOS.....</b>	<b>30</b>
<b>3.METODOLOGIA .....</b>	<b>31</b>
3.1. Preparação das amostras e dos extratos hidroalcoólicos.....	31
3.1.1. <i>Amostras</i> .....	31
3.1.2. <i>Preparação dos extratos hidroalcoólicos</i> .....	32
3.2. Valor nutricional .....	32
3.3. Composição química.....	33
3.3.1. <i>Açúcares livres</i> .....	33
3.3.2. <i>Ácidos orgânicos</i> .....	33
3.3.3. <i>Ácidos gordos</i> .....	34
3.3.4. <i>Tocoferóis</i> .....	34
3.3.5. <i>Compostos fenólicos</i> .....	35
3.4. Bioatividades .....	36

3.5.1. Inibição da peroxidação lipídica através de produtos reativos do ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	36
3.5.2. Ensaio da inibição da hemólise oxidativa (OxHLIA) .....	37
3.5.3. Atividade Antimicrobiana .....	37
3.6. Análise estatística .....	38
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
<b>5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>65</b>
5.1. Conclusão.....	65
5.2. Perspectivas futuras .....	66
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>67</b>

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**Figura 1.** *P. crispum*: (A) folhas, (B) raízes e (C) semente.....21

**Figura 2.** Representação gráfica das principais classes de compostos fenólicos.....27

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Classificação dos compostos fenólicos de acordo com a cadeia carbônica principal.....	26	<b>Erro! Marcador não definido.</b>
<b>Tabela 2.</b> Lista das cultivares utilizadas no presente estudo (tipo e nome das cultivares) e humidade das folhas de salsa (média ± DP).....	39	<b>Erro! Marcador não definido.</b>
<b>Tabela 3.</b> Valor nutricional (g/100 g ms) e energético (kcal/100 g ms) das amostras de folhas de salsa estudadas (média ± DP). ....	42	<b>Erro! Marcador não definido.</b>
<b>Tabela 4.</b> Composição em açúcares livres das amostras de folhas de salsa estudadas (g/100 g ms) (média ± DP). ....	44	<b>Erro! Marcador não definido.</b>
<b>Tabela 5.</b> Composição em ácidos orgânicos das amostras de folhas de salsa estudadas (g/100 g ms) (média ± DP).....	46	<b>Erro!</b>
<b>Marcador não definido.</b>		
<b>Tabela 6.</b> Composição em ácidos gordos (%) das amostras de folhas de salsa estudadas (média ± DP). Os ácidos gordos mais abundantes, a classificação e o rácio relativo são apresentados. ....		<b>Erro! Marcador não definido.</b>
<b>Tabela 7.</b> Composição em tocoferóis das amostras de folhas de salsa estudadas (mg/100 g ms) (média ± DP). ....	49	<b>Erro! Marcador não definido.</b>
<b>Tabela 8.</b> Tempos de retenção (Rt), comprimentos de onda de absorção máxima na região do visível ( $\lambda_{\text{max}}$ ), dados espectrais de massa e tentativa de identificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos hidroalcoólicos das cultivares de folhas de salsa (média ± SD, $n=3$ ). ....	54	
<b>Tabela 9.</b> Quantificação (mg/g de extrato) dos compostos fenólicos presentes nos extratos hidroalcoólicos das cultivares de folhas de salsa (média ± DP, $n = 3$ ). ....	55	
<b>Tabela 10.</b> Atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólico das amostras de folhas de salsa estudadas (média ± DP). ....	58	
<b>Tabela 11.</b> Atividade antibacteriana (concentração mínima de inibição (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB) (mg/mL) dos extratos hidroalcoólicos das amostras de folhas de salsa estudadas. ....	60	

**Tabela 12.** Atividade antifúngica (concentração mínima de inibição (CMI) e concentração fungicida mínima (CFM) mg/mL) dos extratos hidroalcoólicos das amostras de folhas de salsa estudadas.....62

**Tabela A1.** Composição detalhada em ácidos gordos (%) das amostras de salsa estudadas (média±DP)..... **Erro! Marcador não definido.**



**LISTA DE ABREVIATURAS**

±	Mais ou menos
~	Aproximadamente
>	Maior que
ACR	Atividade Captadora de Radicais
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemist</i>
BHT	2,6-Di-t-butil-4-metilfenol
CG	Cromatografia Gasosa
DAD	Detetor de Díodos
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
EAR	Necessidade média estimada
EC <sub>50</sub>	Concentração de extrato correspondente a 50% de atividade antioxidante/anti-inflamatória
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
FAME's	Ésteres metílicos de ácidos gordos
FID	Detetor de Ionização de Chama
FL	Detetor de Fluorescência
FNB	<i>Food and Nutrition Board</i>
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IC <sub>50</sub>	50% da concentração inibitória máxima
INT	Cloreto de <i>p</i> -iodonitrotetrazólico
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LRI	Índice de retenção linear

m/v	Relação massa/volume
m/z	Relação massa/carga
MBC	Concentração mínima bactericida
MCF7	Linha celular de Carcinoma da Mama
MHB	<i>Muller Hinton Broth</i>
CMI	Concentração Mínima Inibitória
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina
MS	Espectrometria de massa
MUFA	Ácidos Gordos Monoinsaturados
Nd	Não detetado
Nº	Número
PBS	Tampão fosfato-salino
PI	Padrão interno
PLP2	Linha celular de Células Normais de Fígado de Porco
<i>P. Crispum</i>	<i>Petroselinum Crispum</i>
PUFA	Ácidos Gordos Polinsaturados
RDA	Ingestão Diária Recomendada
Rpm	Rotações por minuto
Rt	Tempo de Retenção
SFA	Ácidos Gordos Saturados
SRB	Sulfarrodamina B
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TBS	Caldo de Soja Trípico
TF	Flavonóides totais
TIC	Corrente iónica total
TPA	Total de ácidos fenólicos
TPC	Compostos fenólicos totais
UPLC	Cromatografia Líquida Ultra Rápida
UV-VIS	Ultravioleta/Visível
v/v	Relação volume/volume
vs.	<i>Versus</i>
$\lambda_{\max}$	Comprimento de onda máxima

**ARTIGO COM ARBITRAGEM CIENTÍFICA INSERIDO EM PUBLICAÇÕES PERIÓDICAS INTERNACIONAIS**

Os resultados deste trabalho de mestrado deram origem à seguinte publicação científica:

Fernandes,A., Polyzos,N., Petropoulos,S.A., Pinela J., Ardohain E., Moreira G., Ferreira I.C.F.R, Barros L. (2020). Phytochemical composition and nutritional value of pot-grown turnip-rooted and plain and curly-leafed parsley cultivars. *Agronomy*, 10, 1416; <http://doi:10.3390/agronomy10091416>

**RESUMO**

*Petroselinum crispum* Mill., Nym. é uma planta utilizada na culinária como aromática, uma vez que dá cor, aroma e sabor a uma grande variedade de pratos.

No presente estudo o perfil nutricional (humidade, lípidos, proteínas, cinzas, glúcidos e valor energético), químico (ácidos gordos, tocoferóis, açúcares livres, ácidos orgânicos e compostos fenólicos) e bioativo (atividade antioxidante e antimicrobiana) de folhas de salsa (folhas lisa, encaracoladas e nabo enraizado) de 25 cultivares, foi avaliado.

Os teores de humidade foram elevados na cultivar de folhas lisas Rialto Bejo,  $192 \pm 11$  g/vaso, no que se refere aos parâmetros nutricionais foram observadas diferenças significativas nas cultivares, exceto para o teor de glúcidos. O ácido orgânico mais abundante foi o ácido málico (5,22-6,88 g/100 g ms), enquanto que o teor de açúcares livres totais não diferiu significativamente entre os tipos de cultivares testados. O  $\alpha$ -tocoferol foi o principal tocoferol detetado, em quantidades que variaram entre 14,76-30,32 mg/100 g ms. Os ácidos gordos maioritários foram os ácidos  $\alpha$ -linolénico e linoléico, seguidos do ácido palmítico, enquanto que o conteúdo do ácido linoléico diferiu significativamente entre os tipos de cultivares.

Sete compostos fenólicos foram identificados em todas as cultivares, incluindo derivados de apigenina e kaempferol. A apigenina-*O*-pentósido-*O*-hexósido foi o composto maioritário no tipo de folhas lisas, encaracoladas e nabo enraizado (20, 22 e 13 mg/g de extrato, respetivamente) e responsável pela sua excelente atividade antioxidante, também investigada neste estudo.

A atividade antimicrobiana também foi explorada e, os resultados revelaram boa bioatividade contra as estirpes específicas de bactérias e fungos testadas.

Em conclusão, os resultados alcançados refletem a diversidade de cultivares de salsa que existem no germoplasma Grego e assim, é imperativo a sua valorização, com o intuito de fomentar a agrobiodiversidade na região mediterrânea, através da introdução de cultivares de folhas encaracoladas e nabo enraizado, juntamente com os genótipos de folhas lisas já estabelecidos. As folhas dos três tipos de *P. crispum* são uma boa fonte de compostos bioativos naturais que promovem e trazem benefícios para a saúde e por isso devem fazer parte de uma dieta equilibrada.

**Palavras-chave:** *Petroselinum crispum*; valor nutricional; compostos fenólicos; atividade antioxidante; atividade antimicrobiana

**ABSTRACT**

*Petroselinum crispum* Mill., Fuss., is a culinary vegetable used as an aromatic herb, gives colour, aroma and flavours a great variety of dishes.

In the present study nutritional value (moisture, fat, protein, ash, carbohydrates, and energetic value), chemical composition (fatty acids, tocopherols, free sugars, organic acids and phenolic compounds) and bioactive (antioxidant and antimicrobial activity) of parsley leaves (plain- and curly-leafed and turnip-rooted) from twenty-five cultivars were evaluated.

Moisture was higher for the plain-leafed cv. Rialto Bejo:  $192 \pm 11$  g/pot, while significant differences were observed between the three types in the nutritional parameters, except for the carbohydrates content. The most abundant organic acid was malic acid (5.22-6.88 g/100 g dw), while the total free sugars content did not differ significantly among the tested cultivar types.  $\alpha$ -Tocopherol was the major tocopherol detected in amount that ranged between 14.76-30.32 mg/100 g dw. The main fatty acids were  $\alpha$ -linolenic and linoleic followed by palmitic acid, while only linoleic acid content being different among the cultivar types.

Seven phenolic compounds were identified in all the cultivars, including apigenin and kaempferol derivatives. Apigenin-*O*-pentoside-*O*-hexoside was the major compound in plain- and curly-leafed and turnip-rooted (20, 22 and 13 mg/g of extract, respectively) and responsible for its excellent antioxidant activity, also investigated in this study.

Antimicrobial activities were also explored, and the results revealed a good bioactivity against specific tested pathogens, such as bacteria and fungi.

In conclusion, the present findings reflect the diversity of parsley cultivars that exist in Greek germplasm, and thus could be valorized to increase the agrobiodiversity in the broader Mediterranean region through the introduction of less cultivated curly-leafed and turnip-rooted types along with already established plain leaf genotypes.

The leaves of all the types of *P. crispum* are a good font of natural bioactive compounds that promotes health benefits and so it should be part of a balanced diet.

**Keywords:** *Petroselinum crispum*; nutritional value; phenolic compounds; antioxidant activity; antimicrobial activity

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Plantas aromáticas

As plantas aromáticas e medicinais, têm atraído muita atenção pelo papel que desempenham há séculos em todo o mundo. São matrizes utilizadas para fins nutracêuticos, extração de óleos essenciais, preparação de extratos, especiarias, incorporação em alimentos e cosmética (Zhang *et al.*, 2012). Neste sentido, a indústria de plantas aromáticas e medicinais está a tornar-se um setor promissor, em constante evolução e com potencial de crescimento económico (Gunjan *et al.*, 2015).

No que se refere às plantas aromáticas, em Portugal há uma grande variedade de espécies, aproximadamente 3,800, das quais 500 caracterizadas como aromáticas e/ou medicinais. Estas espécies tem origem principalmente das famílias *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Hypericaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Leguminosae*, *Liliaceae*, *Malvaceae*, *Myrtaceae*, *Oleaceae*, *Pinaceae*, *Rosaceae* e *Rutaceae* (Barata *et al.*, 2011).

A procura crescente por estas plantas deve-se à presença de compostos naturais e substâncias biologicamente ativas; tradicionalmente, são utilizadas na culinária para melhorar as características sensoriais e visuais, de forma fresca, seca, inteira, picada ou moída e são preparadas a partir de uma vasta variedade e partes da planta (Suhaj, 2006). Além das finalidades culinárias, também são utilizadas na medicina em função das suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, anti-mutagénicas, anti-carcinogénicas, entre outras (Tajkarimi *et al.*, 2010).

De entre as substâncias extraídas das plantas, destaca-se a extração de compostos voláteis (óleos essenciais) e compostos fenólicos. Estes, são metabolitos secundários sintetizados pela planta, nomeadamente pelos rebentos, flores, caules, sementes, raízes e frutos; têm sido objeto de estudo devido às suas propriedades bioativas e à sua vasta aplicação, sendo empregues como bactericidas, viricidas, fungicidas, inseticidas, bem como na indústria farmacêutica, sanitária, agrícola e em especial na alimentar (Bakkali *et al.*, 2008; Chauhan & Aishwarya, 2018).

Os óleos essenciais são conhecidos principalmente pelas suas propriedades bioativas, sendo a atividade antioxidante e antimicrobiana as que se destacam; os óleos podem

apresentar diferentes funções e aplicações na indústria alimentar e farmacêutica, devido à diversidade na sua composição química (Olmedo *et al.*, 2014; Linde *et al.*, 2016). As famílias que fornecem a maior parte dos óleos essenciais são *Asteraceae*, *Laminaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae* e *Apiaceae* (Florão, 2006).

Na família *Apiaceae*, encontra-se a salsa (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym), popularmente conhecida também como, “salsinha” ou “cheiro verde”. A salsa possui diversas propriedades de interesse para a saúde, nomeadamente, anti-inflamatórios, hipoglicémicos, diuréticos, antimicrobianos, anticoagulantes, hepatoprotectores, imunomoduladores, entre outros. Por isso cada vez mais a área científica tem despertado o interesse em aprofundar os seus benefícios (Yousofi *et al.*, 2011).

## 1.2.Família Apiaceae

A família *Apiaceae* é uma das famílias de plantas mais antigas, utilizada desde a antiguidade para fins medicinais e aromáticos (Sayed-Ahmad *et al.*, 2017). Encontra-se distribuída por todo o mundo, predomina nas zonas temperadas, sendo composta por 3780 espécies agrupadas em 434 géneros e está dividida em quatro subfamílias: *Apiioideae*, *Saniculoideae*, *Azorealloideae* e *Mackinlayoideae* (Gebhardt *et al.*, 2005).

As plantas desta família têm algumas características em comum, tais como, caules ocos, folhas brilhantes, planas, divididas em folíolos recortados, flores pequenas, aromáticas, inflorescências em umbelas simples ou compostas, frutos e sementes (Christensen & Brandt, 2006).

A investigação descrita na literatura tem demonstrado as alegações etno-medicinais deste grande número de plantas pertencentes a esta família; são ricas em metabolitos secundários, tais como: terpenóides, saponinas, flavonoides, cumarinas, poliacetilenos e esteróides (Sayed-Ahmad *et al.*, 2017). Além destes fitoquímicos, essas plantas também são usadas para diferentes tratamentos tais como: doenças relacionadas com o sistema digestivo, endócrino, reprodutivo e respiratório, bem como atividade hipoglicémica, hipolipidémica e antitumoral (Aćimović & Kostadinović, 2015).

De entre as várias aplicações na indústria alimentar, cosmética e farmacêutica, também são considerados agentes biocidas biológicos e ecológicos para o controlo de parasitas e outros vetores (Benelli *et al.*, 2017; Pavela *et al.*, 2017).

As plantas mais cultivadas tradicionalmente e utilizadas na indústria e na gastronomia como temperos, infusões, especiarias, e condimentos são, por exemplo, o cominho (*Cuminum cyminum L.*), a alcaravia (*Carum carvi L.*), a erva-doce (*Foeniculum vulgare Mill.*), os coentros (*Coriandrum sativum L.*), o anis (*Pimpinella anisum L.*), o endro (*Anethum graveolens L.*) e a salsa (*Petroselinum crispum L.*) (Sayed-Ahmad *et al.*, 2017).

### 1.2.1 *Petroselinum crispum (Mill.) Nym*

A salsa (*P. crispum*) é uma planta aromática bienal, pertence à família *Apiaceae*, e é originária da Sardenha. Comumente é cultivada com maior expressividade nas regiões Mediterrâneas da Europa, América e no norte da África (Dadan *et al.*, 2012). As cultivares de salsa variam de acordo com as características morfológicas da planta, existem cultivares de folhas lisas (ssp. *neapolitanum*, Danert), folhas encaracoladas (ssp. *crispum*), e o tipo nabo enraizado ou “Hamburgo” (ssp. *Tuberosum*) (Najla *et al.*, 2012).

*P. crispum* é também considerada uma planta medicinal, e em conjunto com as suas propriedades aromáticas, é rica em metabolitos secundários e compostos biologicamente ativos que trazem efeitos benéficos para a saúde. É considerada uma fonte de óleos essenciais e aromatiza uma série de pratos gastronómicos (Sbai *et al.*, 2016).

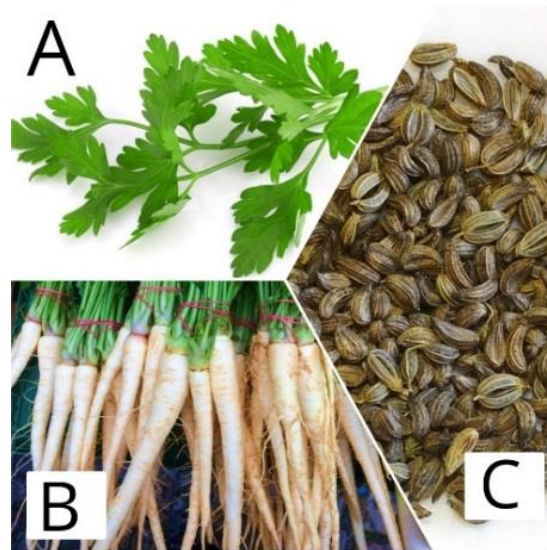
As características morfológicas da salsa estão representadas na **Figura 1**. Cresce 60 a 100 cm de altura e na raiz desenvolvem-se numerosos caules. As raízes podem ser finas ou espessas, fusiformes a tuberosas e verticais, as folhas são trinadas e ovadas. Possui inflorescências longas, pediculares, terminais, com umbelas amarelas. O involúcro pode possuir uma ou duas brácteas. As pétalas são espalhadas com uma ponta curvada, a fruta é ovada orbicular e cinza-esverdeada, contendo 2,5 mm de comprimento (Farzaei *et al.*, 2013).

Esta espécie adapta-se bem em solos arenoargilosos, com elevada matéria orgânica, pH entre 5,8 e 6,8 e tem boa produtividade. A primeira colheita é realizada entre os 50 a 90 dias após a sementeira, quando a altura da planta atinge aproximadamente 10 a 15 cm. O seu



cultivo pode ser explorado entre dois a três anos, especialmente quando é cultivada em condições de clima ameno (Heredia *et al.*, 2003).

Os tipos mais comuns de salsa, que se destinam ao cultivo das folhas, são *P. crispum* ssp. *napolitanum* (de folhas lisas) e *P. crispum* ssp. *crispum* (de folhas encaracoladas), existindo também as plantas que são cultivadas pelas suas raízes carnudas, nomeadamente *P. crispum* ssp. *tuberoso* (folhas maiores e rugosas, tipo nabo enraizado ou Hamburgo) (Dobričević *et al.*, 2019; Petropoulos, Akoumianakis, & Passam, 2004). No entanto, neste último tipo, não apenas as raízes, mas também as folhas, podem ser exploradas, pois possuem um aroma e sabor distintos, semelhante ao tipo de folhas lisas (Petropoulos *et al.*, 2004).



**Figura 1-** *P. crispum*: (A) folhas, (B) raízes e (C) semente.

A salsa, de folhas lisas e encaracoladas, é amplamente cultivada nas regiões do Mediterrâneo, comumente sob irrigação, já a salsa do tipo nabo enraizado, tem sido estudada como uma alternativa, no âmbito da política agrícola de valorização da agrobiodiversidade estabelecida pela Europa. Na Grécia, por exemplo, as localidades onde mais se cultivam a salsa, encontram-se perto de mercados urbanos, como Atenas, onde o clima é relativamente quente e seco, e uma vez que as plantas são suscetíveis ao *stress* hídrico, são colhidas e levadas de imediato para o mercado (Petropoulos *et al.*, 2008).

Como curiosidade nos tempos antigos, a salsa estava relacionada com diversas crenças supersticiosas pelos gregos e romanos antigos. Como por exemplo, na Grécia antiga, usavam

a salsa para decorar as coroas de funerais e, as coroas de salsa eram também utilizadas para homenagear os vencedores de jogos desportivos (Tucker & DeBaggio, 2009).

### **1.3.Composição nutricional e química**

As folhas de *P. crispum* têm sido utilizadas não só para dar sabor aos alimentos, mas também como antitússicas e diuréticas e, também no tratamento de cálculos renais, hemorroides, distúrbios gastrointestinais, visão turva e dermatites. Também são usadas para o tratamento de amenorreia, dismenorreia, pedras nos rins, prostatite, diabetes, halitose, anemia, hipertensão, hiperuricemia, constipação, odontalgia, dor, calvície, indução do aborto, doenças do trato urinário e tratamento da retenção de líquidos (Agyare *et al.*, 2017).

Atendendo a todos os efeitos benéficos que são atribuídas à salsa, torna-se importante aprofundar e conhecer não só a sua composição em micro e macronutrientes, mas também a composição de compostos bioativos.

#### **1.3.1.Macronutrientes**

Os macronutrientes denominados de glúcidos, proteínas e lípidos, são os principais compostos que formam o alimento, são encontrados tanto em vegetais como em animais e são relevantes na dieta para o fornecimento de energia (Aued-Pimentel, 2007).

Os glúcidos são compostos orgânicos encontrados em abundância na natureza. Podem ser divididos em três grupos de acordo com o grau de polimerização, nomeadamente, monossacáridos, oligossacáridos e polissacáridos. São considerados a fonte principal de energia, possuindo influência na textura e processos fisiológicos (Zhao *et al.*, 2018). Farzaei *et al.* (2013) indicam a presença de um glúcido específico na salsa, conhecido popularmente como apiose, que se encontra presente nas sementes, hastes e folhas da planta, contribui principalmente para estrutura dos glicosídeos flavonoides.

As proteínas são componentes essenciais e tem muita importância na dieta, podem ser classificadas em simples, conjugadas e derivadas de acordo com a sua composição, estrutura ou função. Apresentam funções essenciais para a manutenção da massa muscular e sinalização celular (Henley *et al.*, 2010). Tanto os alimentos de origem vegetal como os de origem animal podem ser fontes interessantes deste macronutriente e, em geral, existem

cerca de 1-3% e 35-80% de compostos nitrogenados, respectivamente. Porém, é importante salientar que uma alimentação que inclui vegetais como fonte de proteínas pode ser pobre em certos aminoácidos essenciais (DeMan, 1990).

Em conjunto com os glúcidos e as proteínas, os lípidos são macronutrientes que desempenham diversas funções no organismo, sendo uma das principais a reserva de energia. Exercem também funções, estruturais, hormonais, auxiliam o transporte e absorção das vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) no intestino, e adicionalmente conferem sabor, consistência e estabilidade nos alimentos. Nos vegetais o seu conteúdo é geralmente baixo, podendo corresponder a cerca de 0,1-0,9% (Aued-Pimentel, 2007).

Pereira *et al.* (2015) avaliaram a composição nutricional da salsa, na qual determinaram aproximadamente: 0,74 g/100g massa seca de gordura, 0,65 g/100g de proteínas, 10,69 g/100g de cinzas e 87,91 g/100g de glúcidos, detetando também açúcares como, frutose, glucose e sacarose de 2,30; 6,20; 2,07 g/100g, respectivamente.

### **1.3.2. Micronutrientes**

Os micronutrientes (vitaminas e minerais), são assim denominados, porque a quantidade necessária na dieta é baixa, contudo a sua ingestão é essencial uma vez que não podem ser produzidos endogenamente em quantidades suficientes. São fundamentais para o metabolismo energético, crescimento e diferenciação celular, além de auxiliar nas funções dos órgãos e sistema imunológico (Artioli *et al.*, 2013).

As vitaminas são substâncias que fazem parte do grupo de micronutrientes, são fundamentais por serem compostos orgânicos, não são sintetizados pelo organismo, mas são importantes para o metabolismo. As vitaminas podem ser divididas em duas classes: vitaminas lipossolúveis, que incluem o retinol (A), calciferol (D), tocoferol (E) e fitomenadiona (K1), e vitaminas hidrossolúveis, onde se incluem as vitaminas do complexo B e o ácido ascórbico (vitamina C) (Shergill-Bonner, 2013).

Os minerais, ao contrário das vitaminas, são compostos inorgânicos, exercem funções essenciais em várias vias metabólicas, sinalização celular, síntese e manutenção de tecidos (Artioli *et al.*, 2013).

Há uma grande quantidade de micronutrientes que apresentam propriedades antioxidantes e atuam como coenzimas em muitas reações metabólicas. Os tocoferóis

(vitamina E) ou carotenoides (pró-vitamina A) podem atuar eliminando os radicais livres que se formam e se não forem eliminados, são prejudiciais para as células (Shergill-Bonner, 2013). Já os oligoelementos, a vitamina C e a vitamina E, são relevantes do ponto de vista nutricional, pois apresentam propriedades funcionais, além de atuarem também como antioxidantes (Roberfroid, Coxam & Delzenne, 2008).

Em particular, a vitamina E, descreve uma família de oito compostos provenientes do tocol, nomeadamente alfa, beta, gama e delta -tocoferóis e -tocotrienóis e, são conhecidos por terem uma elevada capacidade antioxidante. Sendo uma vitamina lipossolúvel, a vitamina E, é um dos principais agentes antioxidantes da célula, e uma das principais funções é a proteção contra a peroxidação lipídica através da eliminação de radicais livres. É encontrada em grande quantidade em óleos vegetais, sementes, grãos e cereais (Combs *et al.*, 2016). No ser humano, a ausência da vitamina E na dieta pode proporcionar a diminuição das defesas do sistema imunitário, sendo importante a inclusão na dieta de alimentos ricos em vitamina E (Roberfroid, Coxam & Delzenne, 2008).

Monsen (2000), apresenta um estudo em que evidencia a necessidade do consumo de aproximadamente 15 mg de  $\alpha$ -tocoferol por dia (valor definido para pessoas saudáveis e com idade entre 14 e 70 anos). A ingestão de  $\alpha$ -tocoferol é recomendada, uma vez que do ponto de vista nutricional, a sua atividade é mais elevada comparativamente com a dos restantes isômeros.

### **1.3.3. Composição em ácidos gordos**

Os ácidos gordos são compostos que têm influência direta na saúde do consumidor, são classificados em saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e polinsaturados (PUFA) (Roberfroid, Coxam & Delzenne, 2008). Enquanto que a carne pode apresentar teores elevados de SFA, os vegetais pelo contrário, são ricos em ácidos gordos insaturados, com efeitos benéficos para a saúde (Azevedo, 2014). Os MUFA podem atuar reduzindo a pressão arterial, melhoram a resistência à insulina e atuando favoravelmente nos níveis do colesterol-HDL. Os PUFA podem ser divididos em duas famílias, os ácidos  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6, que atuam de forma benéfica na prevenção das doenças cardiovasculares (DCV). Para além de estarem associados à redução das DCV, várias propriedades benéficas foram atribuídas aos PUFA, nomeadamente, propriedades anti-hipertensivas, anti-inflamatórias, antitrombóticas e antiarrítmicas.

O óleo essencial da salsa pode ser extraído de qualquer parte da planta, e a sua composição pode variar entre as espécies ou condições climáticas em que a planta se encontra (Petropoulos *et al.*, 2004). Farzaei *et al.* (2013), determinou que os principais componentes do óleo essencial da salsa são a miristicina e o apiol, sendo esses os responsáveis pela atividade antioxidante. A miristicina, sendo o composto mais abundante pode ser um agente quimio-preventivo efetivo para o cancro (Farzaei *et al.*, 2013).

A composição do óleo extraído da semente da salsa contém ácidos gordos que são constituídos por níveis elevados de ácidos oleico e petroselínico (82%), pequenas quantidades de ácido linoleico (13%) e palmítico (5%), e vestígios de ácido palmitoleico. O ácido petroselínico foi identificado no óleo da semente por Vongerichten *et al.* (1909). Ngo Duy *et al.*, (2009) demonstraram que 84% dos trigliceróis totais da semente da salsa são acilgliceróis tri-insaturados, enquanto 55,3% são tripetroselinato de gliceril.

À parte dos óleos, são escassos ou inexistentes os estudos sobre a composição de ácidos gordos nas folhas de salsa.

#### **1.3.4. Ácidos orgânicos**

Os ácidos orgânicos são compostos que estão presentes no solo agrícola e apresentam um papel importante na disponibilidade de nutrientes (Adeleke *et al.*, 2017).

Os ácidos orgânicos, tais como, oxálico, cítrico, tartárico, malónico entre outros, são amplamente encontrados em exsudatos radiculares de plantas. Estes ácidos exercem atividade no metabolismo das plantas, ajustando-o, e influenciam no potencial de ativação e fixação dos nutrientes ao redor das raízes das plantas (Ping *et al.*, 2006).

Os exsudatos radiculares fazem parte de uma ampla gama que têm na sua composição compostos complexos, como enzimas, açúcares simples e complexos, aminoácidos, compostos fenólicos, vitaminas, purinas, proteínas, flavonoides e ácidos orgânicos (sendo estes últimos, os que se encontram em maior quantidade) (Adeleke *et al.*, 2017).

A produção de ácidos orgânicos na rizosfera pelas plantas pode variar, dependendo por exemplo, de fatores ambientais, acidez, presença de formas insolúveis de minerais como fosfato ou até mesmo do estágio de desenvolvimento da planta (Adeleke *et al.*, 2017). Os estudos sobre a identificação e quantificação de ácidos orgânicos na salsa são escassos a inexistentes.

### 1.3.5. Compostos fenólicos

As plantas aromáticas e medicinais em geral, são ricas nutricionalmente e uma fonte de compostos bioativos, tais como compostos fenólicos, carotenoides e vitaminas. Na salsa, predominam em maior quantidade os compostos fenólicos, sendo que os flavonoides são o grupo mais representativo, como por exemplo a apigenina, luteolina, crereriol, quercetina e isoranmetina (Charles, 2012).

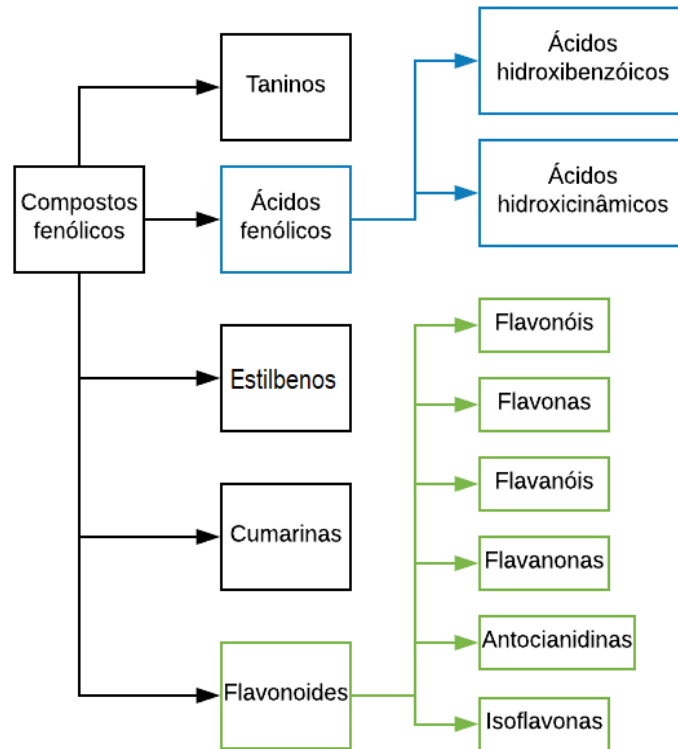
Os compostos fenólicos representam um grupo de substâncias químicas com estrutura extremamente variada. São classificados com base na cadeia principal de carbono que constitui o composto fenólico; a **Tabela 1** apresenta a classificação dos compostos fenólicos de acordo com a cadeia carbônica. No caso dos flavonoides, algumas das suas classes são divididas em subclasses: flavononas, flavonóis, flavonas, antocianidinas, chalconas, flavanóis e isoflavonas (Dias *et al.*, 2019).

**Tabela 1.** Classificação dos compostos fenólicos de acordo com a cadeia carbônica principal.

<b>Estrutura</b>	<b>Classe polifenólica</b>
C <sub>6</sub>	Fenóis
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Ácidos hidroxibenzoicos
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acetofenonas e Ácidos fenilacéticos
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Ácidos hidroxicinâmicos, cumarinas e cromonas
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naftoquinonas
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Benzonfenonas e Xantonas
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Estilbenos e Antranquinonas
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoides
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoides
(C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> ) <sub>n</sub>	Taninos hidrolisáveis
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Taninos condensados ou Proantocianidinas

Os compostos fenólicos são substâncias importantes para o ciclo de vida das plantas, são responsáveis pelo crescimento e germinação, da mesma forma que as protegem de infecções e ataque de microrganismos. Além de terem atividade antioxidante, como

bloqueadores de radicais livres, quelantes de metais e inibidores da peroxidação lipídica, apresentam propriedades tais como, prevenção da oxidação, inflamações, alergias e cancro (Tsimogiannis & Oreopoulou, 2019). A predominância de alguns destes compostos, representados na **Figura 2**, deve-se ao facto de serem metabolitos secundários que compreendem uma grande quantidade de moléculas com estrutura de polifenol (Farzaei *et al.*, 2013).



**Figura 2** - Representação gráfica das principais classes de compostos fenólicos

Sendo assim, as plantas aromáticas e medicinais quando consumidas regularmente na dieta e com base na panóplia de compostos descritos, são uma fonte de compostos benéficos para a saúde (Eddouks *et al.*, 2017). Muitos estudos comprovam que os benefícios estão relacionados com os fitoquímicos nutritivos ou não nutritivos e ao seu elevado conteúdo de micronutrientes (Chauhan & Aishwarya, 2018). A inclusão de folhas de *P. Crispum* na dieta de 14 pessoas durante uma semana provocou um aumento significativo das enzimas antioxidantes em comparação com o grupo que não recebeu essa dieta, e demonstraram que a apigenina foi o composto responsável por esta atividade (Chauhan & Aishwarya, 2018).

Chaves *et al.* (2011) a partir do extrato aquoso de folhas de *P. crispum*, identificou os flavonoides apigenina, apigenina-7-*O*-glucose, apigenina-7-*O*-apiosil-(1→2)-*O*-glucose e a cumarina 2",3"-di-hidroxi-furanocumarina.

#### 1.4. Propriedades bioativas, importância para a saúde e indústria alimentar

Atualmente o uso de plantas e especiarias aromáticas está a crescer significativamente em todo o mundo, em virtude da divulgação das suas propriedades medicinais e terapêuticas. No entanto, a maioria dos seus compostos químicos, bem como o conteúdo que pode ser extraído não está completamente descrito (Altemimi *et al.*, 2017). Um grande número de estudos epidemiológicos demonstrou de forma consistente que o consumo diário de plantas aromáticas está associado à redução de fatores de risco de doenças crónicas, como por exemplo doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade, entre outras, como mencionado anteriormente (Farzaei *et al.*, 2013).

Os compostos bioativos presentes nas plantas são produzidos de forma espontânea na natureza agregando assim a cadeia alimentar, e podem ser denominados de nutracêuticos e também de alimentos funcionais, termos que representam na dieta a sua atividade biológica. Além do valor nutricional do alimento, estas substâncias estão presentes como constituintes naturais e podem fornecer efeitos adicionais benéficos para a saúde (Caleja *et al.*, 2017).

O termo nutracêutico tem sido designado aos produtos que contém um ou mais ingredientes biologicamente ativos (como por exemplo, vitaminas, minerais, proteínas, ómeegas, entre outros) que foram isolados a partir de um alimento com o intuito de complementar a dieta. Enquanto o alimento funcional, por sua vez, além dos efeitos nutricionais inerentes, tem benefícios numa ou mais funções-alvo no corpo humano, funções essas que são relevantes para melhorar a saúde e o bem-estar e/ou reduzir o risco de doença (Caleja *et al.*, 2017).

Um estudo efetuado em Marrocos, demonstrou que o uso de salsa pode controlar uma série de doenças, como distúrbios gastrointestinais, diabetes *mellitus*, doenças de pele, febre, úlcera, reumatismo e hipertensão (Eddouks *et al.*, 2017). Ajebli *et al.* (2019) demonstraram a atividade anti-hipertensiva através da avaliação do extrato aquoso em ratos.

Graf *et al.* (2005) identificaram  $\beta$ -caroteno na salsa, o qual é um componente vegetal solúvel em gordura e quando é necessário, o nosso organismo transforma-o em vitamina A.



Além disso, Daly *et al.* (2010) demonstraram a redução na progressão e desenvolvimento de doenças como aterosclerose, diabetes e cancro do cólon. O  $\beta$ -caroteno também está relacionado com a diminuição dos sintomas de asma, osteoartrite e artrite reumatoide. Os flavonoides da salsa também funcionam como antioxidantes e combinam-se com as espécies reativas de oxigénio e auxiliam na prevenção de danos celulares (Graf *et al.*, 2005).

No que se refere à importância para indústria alimentar, as plantas com estas características, são utilizadas para favorecer as propriedades sensoriais como também conservar os alimentos. São comumente utilizadas as infusões para dar aroma e sabor (Horžičet *al.*, 2009) e podem ser também adicionadas aos alimentos para substituir o sal e condimentos gordurosos (Salgueiro *et al.*, 2010).

García-Chavarría *et al.* (2013), descreveram que os carotenoides representam um grupo de compostos responsáveis pela cor natural de diferentes produtos, não só nas plantas, mas também em animais aquáticos. A cor é um critério importante para os consumidores, uma vez que está relacionada com o valor nutritivo, salubridade, frescura e sabor. Outro estudo realizado por Sayed-Ahmed *et al.* (2017), afirmaram que os compostos fenólicos apresentam uma elevada bioatividade, além de preservar o sabor e cor, impossibilitando a destruição das vitaminas nos alimentos quando adicionados a eles (Ammar *et al.*, 2015).

De acordo com vários estudos, existem muitos fatores que afetam a composição e as propriedades bioativas da salsa. Os processos biossintéticos podem ser influenciados por vários fatores, como as condições meteorológicas, a época de colheita, o genótipo, o regime de irrigação, a época da sementeira, entre outros. Algumas disparidades são observadas entre cultivares e, a diversidade genotípica manifesta-se nas características como a morfologia, crescimento, cor da flor, caule, folhas e composição química. Por exemplo, a salsa colhida do outono acumula mais teores de polifenóis e pigmentos ( $\beta$ -caroteno), do que as plantas cultivadas na primavera, o que pode estar assim, associado à variação do efeito ambiental (Sarwar, Ayyub, Rezgui, Nisar, & Jilani, 2019).

## 2. OBJETIVOS

*P. crispum* é considerada uma das ervas aromáticas mais populares da gastronomia mundial. Como descrito anteriormente, além de ter um uso decorativo, a salsa apresenta vários benefícios para a saúde sendo rica em vários compostos bioativos, como vitaminas, tocoferóis, e compostos fenólicos.

O conhecimento intrínseco das diferentes cultivares de salsa é uma mais-valia para a produção das mesmas e inclusive evidenciar e/ou fomentar a sua importância económica.

O presente trabalho tem como OBJETIVO GERAL disseminar e explorar a diversificação do cultivo da salsa. Para tal, foi efetuada a análise do valor nutricional, composição química e bioatividade de três tipos de folhas de salsa de 25 cultivares, a saber, folha lisa, encaracola e nabo enraizado.

Para alcançar o objetivo geral do trabalho, foram delineados os seguintes OBJECTIVOS ESPECÍFICOS:

- Caracterizar o valor nutricional (lípidos, proteínas, cinzas, hidratos de carbono e energia) e composição química (compostos fenólicos, açúcares livres, ácidos gordos, tocoferóis e ácidos orgânicos) das 25 cultivares de *P. crispum*.
- Avaliar as propriedades bioativas (atividade antioxidante e antimicrobiana).
- Disseminar e fomentar a diversificação de cultivo bem como as suas aplicações.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Padrões e reagentes

O acetonitrilo 99,9%, *n*-hexano 95% e acetato de etilo 99,8% de grau HPLC foram adquiridos da Lab-Scan (Lisboa, Portugal). O etanol 99,8%, metanol 99,9%, hexano, éter de petróleo, ácido sulfúrico e ácido clorídrico de grau analítico foram adquiridos da Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, EUA). O clorofórmio, 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dicloridrato (AAPH), ácido tricloroacético (TCA), tris e os padrões de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (trolox), açúcares (>98% pureza HPLC), ácidos orgânicos (≥99% pureza HPLC), e a mistura de ácidos gordos de ésteres metílicos (FAME) (padrão 47885-U) foram adquiridos da Sigma-Aldrich Co (St. Louis, MO, EUA). Os padrões de tocoferóis (>98% pureza HPLC), tocol 50 mg/mL (98% pureza HPLC), foram adquiridos na Matreya (Pleasant Gap, PA, EUA), os padrões de compostos fenólicos foram adquiridos da Extrasynthèse (S.A., Genay, França).

Agar Mueller-Hinton e agar malte foram obtidos do Instituto de Imunologia e Virology, Torlak (Belgrado, Sérvia). Dimetilsulfóxido (DMSO) foi adquirido na Merck (KGaA, Alemanha). Os controlos positivos (benzoato de sódio) e E224 (metabissulfito de potássio) foram adquiridos na Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Outros reagentes e solventes de grau analítico foram adquiridos de fontes comuns.

A água foi tratada utilizando um sistema de purificação de água Milli-Q (TGI Pure Water Systems, Greenville, SC, EUA).

#### 3.1. Preparação das amostras e dos extratos hidroalcoólicos

##### 3.1.1 Amostras

Sementes de cultivares de *P. crispum* ssp. *Neapolitanum* (folha lisa: Festival 68, Astra, Gigante Di Italia, Rialto Bejo e Fest), *P. crispum* ssp. *Crispum* (folha encaracolada: Depuis 1743, Mooskrause e Moss Curled 2) e *P. crispum* ssp. *tuberosum* (folha nabo enraizado ou Hamburgo: Olomuńcka, Pólina, Linga, Halblange Berlinska, Osborne, Lenka, Sonata, Kaška, Vistula, Konika, Hanacka, Halblange Eagle, Cukrowa, Alba, Root parsley, Berlinski Halblange Springer e Arat) foram adquiridas em diferentes empresas de sementes (**Tabela**

2), semeadas em vasos de 6 L contendo turfa e perlite (1:1; v/v) em novembro de 2018 na estufa experimental da Universidade Tessalia, na Grécia.

Durante o cultivo, as plantas foram irrigadas uma ou duas vezes por semana, através de um sistema de irrigação por aspersão, e duas vezes por mês foram fertilizadas com uma solução nutritiva contendo 200 mg/L de sódio-fósforo-potássio, dependendo da fase de crescimento.

As partes aéreas das diferentes cultivares foram selecionadas de forma aleatória e colhidas em junho de 2019. Posteriormente foram liofilizadas (Liofilizador Labconco), trituradas, e armazenadas num exsiccador, protegidas da luz, até à sua análise.

### 3.1.2 Preparação dos extratos hidroalcoólicos

Para a preparação dos extratos hidroalcoólicos, 2,5g de cada amostra liofilizada foi extraída com 30 mL de etanol/água (80:20, v/v) sob agitação magnética constante, à temperatura ambiente, durante uma hora. O preparado foi filtrado através de um filtro de papel Whatman N° 4 e o resíduo re-extraído pela repetição do procedimento. Posteriormente, o etanol foi evaporado a 40 °C (Buchi R-2010), e procedeu-se à congelação e liofilização (FreeZone 4.5, Labconco, MO, USA) para a obtenção dos extratos.

## 3.2 Valor nutricional

Foi avaliada a composição em macronutrientes (humidade, glúcidos, cinzas, proteínas e lípidos), a humidade e o valor energético conforme os métodos oficiais da análise de alimentos (Latimer, 2016). O teor de humidade foi avaliado com base na diferença de massa obtida antes e depois da liofilização. O teor de proteínas totais foi estimado pelo método macro-Kjeldahl por conversão do azoto total utilizando o fator de conversão ( $N \times 6,25$ ). A gordura total foi determinada através da extração de uma massa conhecida da amostra com éter de petróleo, utilizando o aparelho de Soxhlet. O teor de cinzas foi determinado por incineração numa mufla a  $550 \pm 10$  °C. Os glúcidos foram calculados por diferença, segundo equação: Glúcidos (g/100 g de massa seca (ms)) =  $100 - (\text{g cinzas} + \text{g proteínas} + \text{g lípidos})$ . A energia foi calculada com base no sistema de Atwater de acordo com a equação: Energia (Kcal/100 g ms) =  $4 \times (\text{g proteínas} + \text{g glúcidos}) + 9 \times (\text{g lípidos})$ .

### 3.3 Composição química

#### 3.3.1 Açúcares livres

A determinação dos açúcares livres foi realizada seguindo a metodologia descrita por Obodai *et al.* (2017), utilizando um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) acoplado a um detetor de índice de refração (RI). À amostra liofilizada (1,5 g) foi adicionado 1 mL de padrão interno (PI, melezitose, 25 mg/mL) e posteriormente procedeu-se à extração com 40 mL de etanol 80% a 50 °C durante 1h 30 min. Em seguida, procedeu-se à filtração e evaporação do etanol e o sobrenadante obtido foi lavado três vezes sucessivas com 10 mL de éter etílico. Após concentração a 40 °C, o resíduo sólido foi redissolvido em água destilada para um volume final de 5 mL. Após filtração em filtros de nylon de 0,2  $\mu$ m para *vials*, procedeu-se à análise por HPLC-RI a 35 °C utilizando um sistema de HPLC (Knauer, sistema Smartline) equipado com um detetor de RI (Knauer Smartline 2300) e com uma coluna 100-5 NH2 Eurospher (4,6  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m, Knauer). A fase móvel utilizada foi acetonitrilo/água desionizada, 70:30 (v/v) com um caudal de 1 mL/min. A identificação dos açúcares foi realizada usando o método do padrão interno e por comparação cromatográfica com padrões comerciais. Os resultados foram expressos em g por 100 g de ms.

#### 3.3.2 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos foram determinados por cromatografia líquida ultra rápida com detetor de díodos (UPLC-DAD), conforme a metodologia descrita e otimizada por Pereira *et al.* (2013). Procedeu-se à extração de 1,5 g da amostra liofilizada com 25 mL de ácido metafosfórico (25 °C a 150 rpm) em agitação durante 25 min. As soluções obtidas foram filtradas através de papel Whatman N° 4 e seguidamente através de filtros de *nylon* de 0,2  $\mu$ m (Millipore) para *vials*.

Os ácidos orgânicos foram analisados utilizando um sistema Shimadzu 20A series UFLC (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) equipado com uma coluna de fase reversa C18 SphereClone (Phenomenex, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  4,6 mm), termostaticada a 35 °C. A eluição foi realizada com ácido sulfúrico 3,6 mM usando um caudal de 0,8 mL/min. A detecção foi realizada no DAD, utilizando o comprimento de onda 215 nm e 245 nm (para o ácido ascórbico).

Os ácidos orgânicos identificados foram quantificados por comparação da área dos picos registados a 215 e 245 nm com as curvas de calibração obtidas a partir de padrões comerciais de cada composto. Os resultados foram expressos em g por 100 g de ms.

### 3.3.3 Ácidos gordos

O perfil de ácidos gordos foi determinado conforme a metodologia descrita por (Obodai *et al.*, 2017) utilizando a cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (GC-FID).

A massa resultante da extração por Soxhlet foi misturada a 5 mL de metanol/ácido sulfúrico/tolueno na proporção 2:1:1 (v/v/v), durante 12 horas num banho a 50 °C a 160 rotações por min (rpm), de seguida foram adicionados 3 mL de água destilada para a obtenção das diferentes fases. Os FAMES (ésteres metílicos de ácidos gordos) foram recuperados com 3 mL de éter etílico com agitação em *vortex*. Para eliminar qualquer resíduo de água, o sobrenadante foi submetido a uma microcoluna de sulfato de sódio anidro, recuperou-se então a amostra para um *vial* com tampa contendo membrana de teflon e filtrou-se utilizando um filtro de *nylon* 0,2 µm Milipore.

O perfil de ácidos gordos foi obtido num sistema YOUNG IN Crhomass 6500 GC equipado com um injetor *split/splitless* a 250°C e injeção *split* a 1:80, detetor de ionização de chama (FID) a 260 °C e uma coluna Zebron-Fame (20 m × 0,18 mm × 0,15 µm *df*).

O programa de temperatura do forno obedeceu à seguinte configuração: a temperatura inicial da coluna foi 80 °C, durante 1,5 min; em seguida, aumentou-se a temperatura a 40 °C/min até 160 °C, 5 °C/min até 185 °C, 30 °C/min até 260 °C durante 4 min. O hidrogénio (gás de transporte) tinha um caudal de 0,6 mL/min (0,61 bar), medido a 250 °C. Para cada análise injetou-se 1 µL da amostra. A identificação de ácidos gordos foi feita com base nos tempos de retenção relativos dos picos da mistura padrão de 37 FAMES e das amostras. Os resultados foram processados usando o *software* Clarity 4.0.1.7 (DataApex, Podohradská, República Checa) e expressos em percentagem relativa de cada ácido gordo.

### 3.3.4 Tocoferóis

Os tocoferóis foram determinados de acordo com o procedimento descrito pelos autores (Obodai *et al.*, 2017). Antes de se proceder à extração, adicionou-se à amostra liofilizada (~500 mg) uma solução de BHT em hexano (10 mg/mL, 100 µL) e o PI (tocol em hexano 50 µg/mL; 400 µL). Adicionaram-se 4 mL de metanol e posterior homogeneização no *vortex* durante 1 min. De seguida, adicionaram-se 4 mL de hexano procedendo-se, posteriormente, a nova homogeneização no *vortex* (1 min). Posteriormente adicionou-se ainda 2 mL de uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio, homogeneizou-se no *vortex* (1 min), centrifugou-se (centrifuga refrigerada Centurion K240R-2003, 5 min, 4000g) e transferiu-se, cuidadosamente, o sobrenadante para um frasco. A amostra foi re-extraída

mais duas vezes com hexano e desidratada com sulfato de sódio anidro. O extrato foi levado à secura recorrendo a uma corrente de azoto. De seguida foi re-dissolvido em 2 mL de hexano, filtrado (filtros de 0,22  $\mu\text{m}$ ) para *vials* âmbar e analisado por HPLC-FL.

Utilizou-se um sistema integrado de bomba quaternária (Knauer, sistema Smatline 1000), um desgaseificador (Smartline 5000), um amostrador automático (AS-2057 2500) e um detetor de fluorescência (FL, Jasco) programado para excitação a 290 nm e emissão a 330 nm. Os dados foram analisados usando o software Clarity 2,4 (DataApex, Praga, República Checa). A separação cromatográfica foi conseguida com uma coluna em fase normal Poliamida II (5  $\mu\text{m}$ , 250  $\times$  4,6 mm, WMC Waters, Japão), operando a 30 °C (forno 7971 R Grace). A fase móvel utilizada foi uma mistura de hexano/acetato de etilo (70:30, v/v) com um caudal de 1 mL/min.

A quantificação foi baseada na resposta do sinal de fluorescência, usando o método do PI e por comparação cromatográfica com padrões. Os resultados foram expressos em mg por 100 g de ms.

### 3.3.5 Compostos fenólicos

Os extratos hidroalcoolicos preparados anteriormente foram submetidos a análise cromatográfica de acordo com o procedimento descrito pelos autores Bessada *et al.* (2016), em HPLC Dionex Ultimate 3000 UPLC (Thermo Scientific, San Jose, CA, USA) utilizando um sistema composto por bomba quaternária e dupla deteção on-line: detetor de díodos (DAD), usando o  $\lambda$  de 280 nm, 330 nm e 370 nm, e um detetor de espectrometria de massas (MS). Para a separação utilizou-se uma coluna Waters Spherisorb S3 ODS-2 C18 (3  $\mu\text{m}$ , 150  $\times$  4,6 mm, Waters Milford, MA, USA), operando a 35 °C. A fase móvel foi 0,1% de ácido fórmico em água (A) e acetonitrilo (B). O gradiente de eluição foi de 15% B (5 min), 15% B a 20% B (5 min), 20-25% B (10 min), 25-35% B (10 min), 35-50% B (10 min), e a coluna foi reequilibrada (10 min) utilizando um fluxo de 0,5 mL/min.

A deteção MS foi realizada por um espectrómetro de massa Ion Trap Linear LTQ XL (ThermoFinnigan, San Jose, CA, USA), com uma fonte de ionização electrospray ESI. O azoto foi utilizado como gás de arrasto a 50 psi. O sistema operou com uma voltagem de spray a 5 kV a 325 °C com tensão capilar de -20 V. Foi mantida a voltagem de -66 V do tube lens offset. Os espectros foram gravados em modo ião negativo entre 100 e 1500 m/z. A

energia de colisão utilizada foi de 35 (unidades arbitrárias), e os resultados foram recolhidos e analisados por intermédio no programa Xcalibur® (ThermoFinnigan, San Jose, CA, USA).

Identificaram-se os compostos fenólicos através de comparações dos tempos de retenção, espectros de massa e de UV-Vis com os obtidos pelos padrões quando disponíveis, e/ou comparando com a informação disponível na literatura.

Realizou-se a análise quantitativa de acordo com as retas de calibração usando como base o sinal UV-Vis dos padrões comerciais no seu  $\lambda$  máximo e, quando não disponíveis, a partir de outros compostos com o mesmo grupo fenólico. Os resultados foram expressos em mg por g de extrato.

### 3.4. Bioatividades

#### ***3.5.1. Inibição da peroxidação lipídica através de produtos reativos do ácido tiobarbitúrico (TBARS)***

Das soluções extraídas e liofilizadas, pesou-se a massa de extrato para a preparação de uma solução-mãe, com concentração igual a 10 mg/mL e posteriormente diluída sucessivamente.

Neste ensaio, os TBARS foram obtidos a partir de tecidos cerebrais de porco, de animais oficialmente abatidos. O tecido cerebral foi homogeneizado em solução tampão Tris-HCl (20 mM e pH 7,4) para se obter uma porção de 1:2 (*m/v*) de homogeneizado cerebral após a centrifugação a 4000 g durante 10 min. Recolheu-se o sobrenadante, o qual foi adicionando (100  $\mu$ L) às soluções das amostras (200  $\mu$ L) na presença de 100  $\mu$ L de FeSO<sub>4</sub> (10 mmol/L e 100  $\mu$ L de ácido ascórbico (0.1 mmol/L) e posterior incubação a 37 °C durante 1 hora. Após a incubação, sessou-se a reação através da adição de 500  $\mu$ L de ácido tricloroacético (28%, *m/v*), seguido do ácido tiobarbitúrico (TBA, 2%, *m/v*, 380  $\mu$ L). Seguidamente a mistura foi aquecida a 80 °C durante 20 min e centrifugada a 3000 g durante 10 min para remover o precipitado proteico. A intensidade da cor do complexo malondialdeído (MDA) – TBA no sobrenadante foi medida a 532 nm e a inibição da peroxidação lipídica (%) foi calculada segundo a equação: *Inibição de peroxidação lipídica (%) = [(A – B) / A] × 100* (Sarmiento *et al.*, 2015).



### 3.5.2. Ensaio da inibição da hemólise oxidativa (OxHLIA)

Para a realização deste ensaio celular, foi efetuada uma colheita de sangue de ovelha do qual foram obtidos apenas os eritrócitos por centrifugação (Multifuge X1R, Thermo Fisher Scientific) a 2900 rpm, durante 5 min a 10 °C. Após eliminação do sobrenadante, a amostra centrifugada foi submetida a uma lavagem com NaCl (150 mM) seguida de três lavagens com tampão fosfato-salino (PBS; pH 7,4), procedendo-se a centrifugação e remoção do sobrenadante a cada lavagem. Em seguida preparou-se uma solução de eritrócitos a 2,8% (v/v) tendo como diluente o PBS. Posteriormente 200 µL da solução de eritrócitos foram adicionados a 400 µL de PBS, (servindo esta solução de controlo), bem como às diferentes concentrações de extrato dissolvidas em PBS (31.25–2000 mg/mL). Realizou-se ainda a adição da solução de eritrócitos a água (para promover a hemólise completa), funcionando como um controlo negativo. Os ensaios foram realizados em microplacas de 48 poços, as quais foram incubadas a 37 °C durante 10 min com agitação. Após o período de incubação, foram adicionados 200 µL de dicloridrato de 2,2'-azobis (2-amidinopropano) (AAPH; 160 mM) e a densidade ótica foi medida a 690 nm. As microplacas foram depois incubadas nas mesmas condições até hemólise completa, com medições a cada 10 min (Lockowandt *et al.*, 2019).

A percentagem da população de eritrócitos (PE) que permanece intacta foi calculada conforme a equação:  $PE (\%) = (St - CH0 / S0 - CH0) \times 100$ , onde St e S0 correspondem à densidade ótica da amostra num instante de tempo t e 0 min, respetivamente, e CH0 é a densidade ótica correspondente à hemólise completa aos 0 min.

Os resultados foram expressos como tempo de atraso da hemólise ( $\Delta t$ ), calculado da seguinte equação:  $\Delta t (\text{min}) = Ht_{50} (\text{amostra}) - Ht_{50} (\text{controlo})$ , onde  $Ht_{50}$  é o tempo correspondente a 50% de hemólise (min) obtido graficamente a partir da curva de hemólise para cada concentração de amostra antioxidante. O trolox (7.81–250 µg/mL) foi utilizado como controlo positivo.

Foram estabelecidas correlações entre os valores de  $\Delta t$  e as diferentes concentrações de amostra, de forma a calcular a concentração capaz de retardar a hemólise em 60 min ( $IC_{50}$  (60 min), mg/mL) e 120 min ( $IC_{50}$  (120 min), mg/mL).

### 3.5.3. Atividade Antimicrobiana

Quatro bactérias Gram (+) [*Bacillus cereus* (isolado clínico), *Micrococcus flavus* (ATCC 10240), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), e *Listeria monocytogenes* (NCTC 7973)] e bactérias Gram (-) [*Escherichia coli* (ATCC 35210)], *Enterobacter cloacae* (isolado humano),

*Salmonella enteritidis* (isolado clínico) e *S. typhimurium* (ATCC 13311)] foram utilizadas para avaliar a atividade antibacteriana dos extratos hidroalcoólicos das folhas de salsa. Sete fungos [*Aspergillus fumigatus* (ATCC 1022), *A. versicolor* (ATCC 11730), *A. ochraceus* (ATCC 12066), *A. niger* (ATCC 6275), *Cladosporium cladosporioides* (ATCC 11278), *Penicillium funiculosum* (ATCC 36839), e *P. verrucosum* var. *ciclopium* foram utilizados para avaliar a atividade antifúngica.

Os microrganismos foram obtidos no laboratório de micologia, Departamento de Fisiologia Vegetal, Instituto de investigação biológica "Sinisa Stanković", Universidade de Belgrado, Sérvia. O ensaio antimicrobiano foi realizado utilizando o método de microdiluição seguindo a metodologia anteriormente descrita pelos autores (Petropoulos *et al.*, 2017).

As concentrações que inibiram completamente o crescimento foram definidas como as concentrações mais baixas que não permitiram crescimento visível após visualização no microscópio binocular, sendo determinadas pelo ensaio da viabilidade microbiana colorimétrica baseado na redução do corante INT (violeta *p*-iodonitrotetrazolium) e pela reinoculação de 10  $\mu$ L de meio com o inóculo. Após 24 horas, observou-se o crescimento de microrganismos, e a ausência de crescimento foi considerada como a concentração mínima inibitória (CMI). A concentração mínima bactericida (CMB) e a concentração mínima fungicida (CMF) foram também calculadas, indicando 99,5% de inibição do inóculo original.

Os aditivos alimentares E211 (benzoato de sódio) e E224 (metabissulfito de potássio) foram utilizados como controlos positivos e 5% de DMSO foi utilizado como controlo negativo.

### 3.6 Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicado ( $n=3$ ) e os valores expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP). Os testes estatísticos foram realizados com o nível de significância de 5%, utilizando o software estatístico SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Versão 23.0; IBM Corp., Armonk, NY, EUA). As diferenças entre as amostras foram avaliadas pela análise de unidirecional de variância (ANOVA) e as médias com paradas de acordo com o teste Tukey's HSD ( $p=0,05$ ).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A humidade referente aos três tipos de cultivares de salsa estudadas é apresentada na **Tabela 2**. Diferenças significativas foram observadas entre os três tipos de cultivares (folhas lisas, encaracoladas e nabo enraizado), bem como entre as cultivares do mesmo tipo.

A humidade foi elevada no tipo de folhas lisas Rialto Bejo ( $192 \pm 11$  g/vaso), seguido do tipo nabo enraizado (variedade Comum e Arat,  $156 \pm 10$  g/vaso e  $153 \pm 12$  g/vaso, respetivamente). No caso das cultivares de folhas encaracoladas, os teores mais elevados foram verificados na cultivar Mooskrause ( $107 \pm 9$  g/vaso).

Estes resultados são semelhantes aos descritos pelos autores (Petropoulos *et al.*, 2006) que também verificaram diferenças significativas na humidade das folhas de três cultivares de salsa, de diferentes tipos. No entanto, no mesmo estudo, verificaram que a época em que se semeia pode afetar a humidade das folhas, uma vez que os diferentes génotipos podem ter ciclos de crescimento diferentes, nomeadamente, do estágio de maturação à colheita (Petropoulos *et al.*, 2006). Os mesmos autores verificaram ainda que a época de cultivo afeta o rendimento radicular da salsa nabo enraizado (Petropoulos *et al.*, 2005). Este facto, pode explicar parcialmente as diferenças observadas no nosso estudo, uma vez que todas as cultivares foram semeadas e colhidas na mesma época, com o objetivo de eliminar a variabilidade das condições ambientais.

Resultados semelhantes aos obtidos neste estudo, foram apresentados pelos autores Golubkina *et al.* (2020) e, obtiveram diferenças significativas nos teores de humidade em três tipos diferentes de aipo (do tipo frondoso, caule e raiz), bem como entre as cultivares do mesmo tipo, sugerindo assim a variabilidade entre génotipos.

**Tabela 2.** Lista das cultivares utilizadas no presente estudo (tipo e nome das cultivares), humidade das folhas e empresas de sementes (média±DP).

<b>Tipo de cultivar</b>	<b>Nome da cultivar</b>	<b>Humidade (g/vaso)</b>	<b>Empresas de sementes</b>
<b>Folhas lisas</b>		<b>97±8<sup>A*</sup></b>	
	Festival 68	81±8 <sup>d</sup>	W. Legutko
	Astra	50±9 <sup>e</sup>	Polan
	Gigante Di Italia	122±7 <sup>b</sup>	W. Legutko
	Fest	87±8 <sup>c</sup>	Polan
	Rialto Bejo	192±10 <sup>a</sup>	Bejo Zaden
<b>Folhas encaracoladas</b>		<b>87±8<sup>B</sup></b>	
	Depuis 1743	91±7 <sup>b</sup>	Vilmorin Garden
	Moss Curled 2	66±9 <sup>c</sup>	W. Legutko
	Mooskrause	107±9 <sup>a</sup>	Semenarna Ljubljana
<b>Folhas nabo enraizado</b>		<b>86±8<sup>B</sup></b>	
	Olomuńcka	88±6 <sup>d</sup>	W. Legutko
	Pólna	63±8 <sup>j</sup>	Toraf
	Linga	102±10 <sup>b</sup>	Polan
	Halblange Berlinska	81±9 <sup>f</sup>	W. Legutko
	Osborne	92±9 <sup>c</sup>	PNOS
	Lenka	68±8 <sup>hi</sup>	W. Legutko
	Sonata	95±4 <sup>c</sup>	PNOS
	Kaśka	83±5 <sup>ef</sup>	PNOS
	Vistula	85±10 <sup>e</sup>	Polan
	Konika	69±9 <sup>gh</sup>	Toraf
	Hanacka	56±3 <sup>k</sup>	Vilmorin Garden
	Halblange Eagle	56±6 <sup>k</sup>	W. Legutko
	Cukrowa	66±6 <sup>ij</sup>	W. Legutko
	Alba	71±9 <sup>g</sup>	Vilmorin Garden
	Arat	153±12 <sup>a</sup>	Bejo Zaden
	Root parsley (comum)	156±10 <sup>a</sup>	-
	Berlinski Halblange Springer	91±8 <sup>d</sup>	Springer semena

\* As letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias dos três tipos de cultivares, de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ , enquanto que as letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias das cultivares do mesmo tipo de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ .

O valor nutricional dos três tipos de cultivares (folhas lisas, encaracoladas e nabo enraizado) é apresentado na **Tabela 3**. Os tipos de folhas lisas e encaracoladas apresentaram teores elevados de lípidos ( $2,7 \pm 0,4$  g/100 g ms e  $2,9 \pm 0,1$  g/100 g ms, respetivamente) e energia ( $367 \pm 3$  kcal/100 g ms e  $369 \pm 3$  kcal/100 g ms, respetivamente) comparativamente com as folhas de nabo enraizado ( $2,5 \pm 0,2$  g/100 g ms e  $364 \pm 3$  kcal/100 g ms).

Por sua vez, o teor em proteínas foi elevado nos tipos de folhas encaracoladas e nabo enraizado ( $12,4 \pm 0,8$  g/100 g ms e  $12 \pm 1$  g/100 g ms, respetivamente). O teor de cinzas foi elevado nas folhas do tipo nabo enraizado ( $12,1 \pm 0,7$  g/100 g ms), não sendo significativamente diferente do tipo das folhas lisas, e também não foram observadas diferenças significativas entre os três tipos de folhas no que se refere ao teor de glúcidos.

Em relação às cultivares individuais, teores elevados de lípidos foram obtidos na Festival 68, Astra e Rialto Bejo (cultivares de folhas lisas) ( $2,91 \pm 0,06$  g/100 g ms,  $2,99 \pm 0,03$  g/100 g ms e  $3,00 \pm 0,09$  g/100 g ms, respetivamente) e nas Mooskrause e Linga cultivares de folhas encaracoladas ( $2,97 \pm 0,06$  g/100 g ms) e nabo enraizado ( $2,85 \pm 0,02$  g/100 g ms).

Os teores em proteínas foram elevados nas cultivares Astra (folha lisa,  $12,28 \pm 0,08$  g/100 g ms), Depois 1743 (folha encaracolada,  $13,43 \pm 0,08$  g/100 g ms) e Osborne e Kaška (folha nabo enraizado,  $13,74 \pm 0,06$  g/100 g ms e  $13,79 \pm 0,06$  g/100 g ms, respetivamente).

Os teores elevados em cinzas foram verificados nas cultivares Gigante Di Italia (folha lisa,  $12,58 \pm 0,08$  g/100 g ms), Depois 1743 (folha encaracolada,  $12,19 \pm 0,01$  g/100 g ms) e Osborne e Sonata (folha nabo enraizado,  $13,38 \pm 0,02$  g/100 g ms e  $13,36 \pm 0,03$  g/100 g ms, respetivamente). Os teores de glúcidos foram elevados nas cultivares Fest (folha lisa,  $76,7 \pm 0,1$  g/100 g ms), Mooskrause (folha encaracolada,  $74,7 \pm 0,1$  g/100 g ms) e Arat (folha nabo enraizado,  $75,8 \pm 0,1$  g/100 g ms).

O valor energético apresentou variabilidade entre as cultivares de folhas lisas e nabo enraizado, sendo a Festival 68 (folha lisa) e Arat (nabo enraizado) as que apresentaram teores

elevados ( $369,6 \pm 0,1$  kcal/100 g ms e  $369,1 \pm 0,1$  kcal/100 g ms, respetivamente), e por sua vez, não foram observadas diferenças significativas entre as cultivares de folhas encaracoladas.

No estudo realizado por Khalil, Esoh, Rababah, Almajwal, & Alu (2012), obtiveram resultados significativamente menores de proteínas, lípidos e glúcidos, e teores elevados de cinzas em comparação com os resultados obtidos neste estudo. Estas diferenças podem ser justificadas pelo genótipo diferente das amostras, uma vez que não apresentaram detalhes relativamente à cultivar utilizada.

Da mesma forma, para a composição proximal, El Gindy, Youssef & Youssif (2017), obtiveram resultados diferentes em comparação com os apresentados neste estudo.

Até onde sabemos, existe uma lacuna na literatura em relação à descrição detalhada da composição proximal das folhas de salsa, uma vez que na maioria, os estudos focam-se nos teores de vitamina C, fibras, teor de matéria seca, *etc.*, assim, os resultados obtidos neste trabalho serão úteis para a caracterização nutricional dos diferentes tipos de folhas de salsa e de diferentes cultivares.

**Tabela 3.** Valor nutricional (g/100 g ms) e energético (kcal/100 g ms) das amostras de folhas de salsa estudadas (média ± DP).

Tipo de cultivar	Nome da Cultivar	Lípidos	Proteínas	Cinzas	Glúcidos	Energia
<b>Folhas lisas</b>		<b>2,7±0,4<sup>A,B</sup></b>	<b>11,4±0,8<sup>B</sup></b>	<b>11,6±0,7<sup>A,B</sup></b>	<b>74±2<sup>A</sup></b>	<b>367±3<sup>A</sup></b>
	Festival 68	2,91±0,06 <sup>a</sup>	10,16±0,09 <sup>e</sup>	11,23±0,07 <sup>d</sup>	75,7±0,2 <sup>b</sup>	369,6±0,1 <sup>a</sup>
	Astra	2,99±0,03 <sup>a</sup>	12,28±0,08 <sup>a</sup>	11,73±0,09 <sup>c</sup>	73,00±0,01 <sup>d</sup>	368,0±0,4 <sup>b</sup>
	Gigante Di Italia	2,48±0,04 <sup>b</sup>	11,52±0,06 <sup>c</sup>	12,58±0,08 <sup>a</sup>	73,4±0,1 <sup>c</sup>	362,1±0,1 <sup>c</sup>
	Fest	2,01±0,06 <sup>c</sup>	10,74±0,06 <sup>d</sup>	10,52±0,08 <sup>e</sup>	76,7±0,1 <sup>a</sup>	368,0±0,4 <sup>b</sup>
	Rialto Bejo	3,00±0,09 <sup>a</sup>	12,15±0,02 <sup>b</sup>	11,95±0,01 <sup>b</sup>	72,90±0,07 <sup>d</sup>	367,2±0,3 <sup>b</sup>
<b>Folhas encaracoladas</b>		<b>2,9±0,1<sup>A</sup></b>	<b>12,4±0,8<sup>A</sup></b>	<b>11,3±0,7<sup>B</sup></b>	<b>73±2<sup>A</sup></b>	<b>369±3<sup>A</sup></b>
	Depuis 1743	2,89±0,03 <sup>b</sup>	13,43±0,08 <sup>a</sup>	12,19±0,01 <sup>a</sup>	71,5±0,1 <sup>c</sup>	365,7±0,2 <sup>b</sup>
	Moss Curled 2	2,70±0,01 <sup>c</sup>	12,22±0,04 <sup>b</sup>	10,85±0,07 <sup>b</sup>	74,2±0,1 <sup>b</sup>	370,1±0,2 <sup>a,b</sup>
	Mooskrause	2,97±0,06 <sup>a</sup>	11,53±0,02 <sup>c</sup>	10,84±0,09 <sup>b</sup>	74,7±0,1 <sup>a</sup>	371,5±0,5 <sup>a</sup>
<b>Folhas nabo enraizado</b>		<b>2,5±0,2<sup>B</sup></b>	<b>12±1<sup>A</sup></b>	<b>12,1±0,7<sup>A</sup></b>	<b>73±2<sup>A</sup></b>	<b>364±3<sup>B</sup></b>
	Olomuńcka	2,20±0,02 <sup>g</sup>	13,53±0,08 <sup>d</sup>	12,12±0,05 <sup>d,e</sup>	72,2±0,1 <sup>h</sup>	362,5±0,1 <sup>h</sup>
	Pólna	2,15±0,05 <sup>g</sup>	11,61±0,06 <sup>j,k</sup>	12,03±0,02 <sup>e,f</sup>	74,2±0,1 <sup>c</sup>	362,6±0,1 <sup>h</sup>
	Linga	2,85±0,02 <sup>a</sup>	13,63±0,01 <sup>b,c,d</sup>	12,33±0,01 <sup>c</sup>	71,20±0,02 <sup>i</sup>	364,9±0,1 <sup>f</sup>
	Halblange Berlinska	2,30±0,03 <sup>f</sup>	12,92±0,04 <sup>e</sup>	12,19±0,02 <sup>d</sup>	72,6±0,1 <sup>g</sup>	362,8±0,2 <sup>h</sup>
	Osborne	2,67±0,03 <sup>b,c</sup>	13,74±0,06 <sup>a,b</sup>	13,38±0,02 <sup>a</sup>	70,2±0,1 <sup>k</sup>	359,8±0,1 <sup>j</sup>
	Lenka	2,30±0,01 <sup>f</sup>	10,71±0,03 <sup>m</sup>	12,97±0,01 <sup>b</sup>	74,0±0,1 <sup>d</sup>	359,6±0,1 <sup>j</sup>
	Sonata	2,56±0,02 <sup>d</sup>	13,67±0,09 <sup>a,b,c</sup>	13,36±0,03 <sup>a</sup>	70,4±0,1 <sup>j</sup>	359,4±0,1 <sup>j</sup>
	Kaśka	2,47±0,02 <sup>e</sup>	13,79±0,06 <sup>a</sup>	11,58±0,04 <sup>h</sup>	72,2±0,1 <sup>h</sup>	366,1±0,2 <sup>e</sup>
	Vistula	2,15±0,01 <sup>g</sup>	12,50±0,05 <sup>f</sup>	11,68±0,04 <sup>g</sup>	73,7±0,1 <sup>f</sup>	364,0±0,1 <sup>g</sup>
	Konika	2,44±0,01 <sup>e</sup>	13,55±0,06 <sup>c,d</sup>	12,89±0,05 <sup>b</sup>	71,12±0,08 <sup>i</sup>	360,6±0,1 <sup>i</sup>
	Hanacka	2,60±0,09 <sup>c,d</sup>	12,07±0,03 <sup>h</sup>	11,59±0,02 <sup>g,h</sup>	73,7±0,1 <sup>e,f</sup>	366,6±0,3 <sup>d</sup>
	Halblange Eagle	2,56±0,01 <sup>d</sup>	11,70±0,04 <sup>i,j</sup>	11,41±0,08 <sup>i,j</sup>	74,3±0,1 <sup>c</sup>	367,2±0,2 <sup>d</sup>
	Cukrowa	2,69±0,06 <sup>b</sup>	11,10±0,07 <sup>l</sup>	11,63±0,01 <sup>g,h</sup>	74,6±0,1 <sup>b</sup>	366,9±0,2 <sup>d</sup>
	Alba	2,59±0,02 <sup>c,d</sup>	11,56±0,08 <sup>k</sup>	11,98±0,05 <sup>f</sup>	73,9±0,1 <sup>d,e</sup>	365,1±0,1 <sup>f</sup>
	Arat	2,59±0,01 <sup>d</sup>	10,62±0,05 <sup>m</sup>	10,96±0,03 <sup>k</sup>	75,8±0,1 <sup>a</sup>	369,1±0,1 <sup>a</sup>
	Root parsley (comum)	2,62±0,06 <sup>b,c,d</sup>	12,33±0,05 <sup>g</sup>	11,32±0,08 <sup>j</sup>	73,7±0,1 <sup>e,f</sup>	367,8±0,4 <sup>c</sup>
	Berlinski Halblange Springer	2,86±0,03 <sup>a</sup>	11,80±0,04 <sup>i</sup>	11,45±0,09 <sup>i</sup>	73,9±0,1 <sup>d,e</sup>	368,5±0,2 <sup>b</sup>

\* As letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias dos três tipos de cultivares, de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ , enquanto que as letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias das cultivares do mesmo tipo de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ .

A composição referente aos açúcares livres das cultivares de salsa estudadas é apresentada na **Tabela 4**. Os monossacarídeos apiose, frutose e glucose e o dissacarídeo sacarose foram detetados em todas as amostras, sendo este último, em geral, o açúcar mais abundante seguido da glucose.

Diferenças significativas foram observadas entre os três tipos de cultivares (com exceção da sacarose e os açúcares livres totais) e também entre as cultivares do mesmo tipo.

As cultivares Fest (de folhas simples) e Mooskrause (de folhas encaracoladas) revelaram teores elevados de açúcares livres totais, principalmente sacarose ( $4,42 \pm 0,01$  e  $3,77 \pm 0,01$  g/100 ms, respetivamente) e glucose ( $2,77 \pm 0,06$  e  $2,63 \pm 0,02$  g/100 ms, respetivamente). Por sua vez, Astra e Depois 1743 (cultivares de folhas lisas e encaracoladas, respetivamente) apresentaram teores elevados de apiose ( $0,98 \pm 0,01$  e  $0,89 \pm 0,02$  g/100 ms, respetivamente), um açúcar de cadeia ramificada específico para plantas. Entre as cultivares de nabo enraizado, aos teores elevados de açúcares livres totais foram observados nas cultivares Sonata, Kaška e Halblange Eagle ( $9,28 \pm 0,07$ ,  $8,87 \pm 0,09$  e  $8,72 \pm 0,09$  g/100 g ms, respetivamente), que também apresentaram teores elevados de sacarose ( $4,12 \pm 0,02$ ,  $3,92 \pm 0,03$  e  $3,98 \pm 0,01$  g/100g ms, respetivamente).

A determinação de açúcares livres permitiu identificar as cultivares de salsa com os menores teores de açúcares ( $\leq 6,6$  g/100 g ms), nomeadamente a Root parsley (variedade comum,  $5,50 \pm 0,05$  g/100g ms), Konika ( $5,92 \pm 0,01$  g/100 g ms), Pólna ( $6,66 \pm 0,08$  g/100 g ms) e Festival 68 ( $6,6 \pm 0,1$  g/100 g ms).

Resultados semelhantes ao nosso estudo, foram observados pelos autores Saleh, Selim, Jaouni e AbdElgawad (2018), em que detetaram a frutose, glucose e sacarose nas folhas de salsa cultivadas na Holanda, mas em quantidade significativamente menor. Boldizsár *et al.* (2013) identificaram os mesmos sacarídeos em amostras de folhas de salsa cultivadas na Hungria, mas não detetaram apiose.



**Tabela 4.** Composição em açúcares livres das amostras de folhas de salsa estudadas (g/100 g ms) (média  $\pm$  DP).

Tipo de cultivar	Nome da Cultivar	Apiose	Frutose	Glucose	Sacarose	Açúcares totais
<b>Folhas lisas</b>		<b>0,8<math>\pm</math>0,2<sup>B*</sup></b>	<b>1,4<math>\pm</math>0,5<sup>A</sup></b>	<b>2,2<math>\pm</math>0,5<sup>B</sup></b>	<b>3,4<math>\pm</math>0,7<sup>A</sup></b>	<b>7,7<math>\pm</math>0,7<sup>A</sup></b>
	Festival 68	0,58 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	1,01 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	2,02 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>	3,01 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	6,6 $\pm$ 0,1 <sup>e</sup>
	Astra	0,98 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	1,24 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	1,46 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	3,61 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	7,29 $\pm$ 0,08 <sup>d</sup>
	Gigante Di Italia	0,76 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	1,26 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	2,52 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	3,52 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	8,06 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>
	Fest	0,59 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	0,98 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	2,77 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	4,42 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	8,76 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
	Rialto Bejo	0,88 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	2,33 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	2,11 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	2,49 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	7,81 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
<b>Folhas encaracoladas</b>		<b>0,87<math>\pm</math>0,03<sup>A,B</sup></b>	<b>1,22<math>\pm</math>0,08<sup>A</sup></b>	<b>2,53<math>\pm</math>0,08<sup>A,B</sup></b>	<b>3,2<math>\pm</math>0,5<sup>A</sup></b>	<b>7,9<math>\pm</math>0,4<sup>A</sup></b>
	Depuis 1743	0,89 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	1,32 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	2,45 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	2,68 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	7,3 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>
	Moss Curled 2	0,89 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	1,20 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	2,51 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	3,30 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	7,90 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>
	Mooskrause	0,83 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	1,15 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	2,63 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	3,77 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	8,37 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
<b>Folhas nabo enraizado</b>		<b>1,0<math>\pm</math>0,3<sup>A</sup></b>	<b>0,7<math>\pm</math>0,1<sup>B</sup></b>	<b>2,6<math>\pm</math>0,5<sup>A</sup></b>	<b>3,2<math>\pm</math>0,5<sup>A</sup></b>	<b>7,6<math>\pm</math>0,9<sup>A</sup></b>
	Olomuňcka	1,16 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	0,83 $\pm$ 0,01 <sup>c,d</sup>	2,50 $\pm$ 0,01 <sup>h</sup>	3,50 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	7,99 $\pm$ 0,07 <sup>e</sup>
	Pólna	0,80 $\pm$ 0,01 <sup>j</sup>	0,60 $\pm$ 0,03 <sup>h</sup>	2,73 $\pm$ 0,01 <sup>f</sup>	2,52 $\pm$ 0,04 <sup>k</sup>	6,66 $\pm$ 0,08 <sup>j</sup>
	Linga	1,01 $\pm$ 0,05 <sup>f</sup>	0,68 $\pm$ 0,01 <sup>g</sup>	2,82 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	3,16 $\pm$ 0,04 <sup>f</sup>	7,66 $\pm$ 0,01 <sup>g,h</sup>
	Halblange Berlinska	0,80 $\pm$ 0,01 <sup>j</sup>	0,55 $\pm$ 0,01 <sup>i</sup>	2,72 $\pm$ 0,01 <sup>f</sup>	3,07 $\pm$ 0,01 <sup>g,h</sup>	7,14 $\pm$ 0,01 <sup>i</sup>
	Osborne	1,10 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	0,66 $\pm$ 0,02 <sup>g</sup>	2,43 $\pm$ 0,02 <sup>i</sup>	2,93 $\pm$ 0,03 <sup>i</sup>	7,11 $\pm$ 0,04 <sup>i</sup>
	Lenka	1,48 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,96 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	2,00 $\pm$ 0,06 <sup>j</sup>	3,52 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>	7,95 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>
	Sonata	1,24 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,56 $\pm$ 0,02 <sup>h,i</sup>	3,36 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	4,12 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	9,28 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>
	Kaška	1,72 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,73 $\pm$ 0,03 <sup>f</sup>	2,50 $\pm$ 0,01 <sup>h,i</sup>	3,92 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	8,87 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>
	Vistula	1,25 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	0,90 $\pm$ 0,02 <sup>a,b</sup>	2,51 $\pm$ 0,02 <sup>h</sup>	3,78 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	8,45 $\pm$ 0,09 <sup>d</sup>
	Konika	0,99 $\pm$ 0,02 <sup>f,g</sup>	0,76 $\pm$ 0,01 <sup>e,f</sup>	1,99 $\pm$ 0,01 <sup>j</sup>	2,18 $\pm$ 0,02 <sup>l</sup>	5,92 $\pm$ 0,01 <sup>k</sup>
	Hanacka	0,92 $\pm$ 0,01 <sup>i</sup>	0,77 $\pm$ 0,01 <sup>d,e,f</sup>	2,57 $\pm$ 0,01 <sup>g</sup>	2,79 $\pm$ 0,07 <sup>j</sup>	7,06 $\pm$ 0,08 <sup>i</sup>
	Halblange Eagle	0,93 $\pm$ 0,01 <sup>h,i</sup>	0,79 $\pm$ 0,04 <sup>d,e</sup>	3,02 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>	3,98 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	8,72 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>
	Cukrowa	0,97 $\pm$ 0,01 <sup>f,g,h</sup>	0,88 $\pm$ 0,05 <sup>b,c</sup>	3,01 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	3,03 $\pm$ 0,01 <sup>h</sup>	7,89 $\pm$ 0,09 <sup>e,f</sup>
	Alba	0,92 $\pm$ 0,04 <sup>i</sup>	0,79 $\pm$ 0,04 <sup>d,e,f</sup>	3,43 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	3,27 $\pm$ 0,05 <sup>e</sup>	8,40 $\pm$ 0,07 <sup>d</sup>
	Arat	0,95 $\pm$ 0,01 <sup>g,h,i</sup>	0,56 $\pm$ 0,01 <sup>h,i</sup>	3,16 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	3,11 $\pm$ 0,01 <sup>f</sup>	7,78 $\pm$ 0,01 <sup>f,g</sup>
	Root parsley (comum)	0,48 $\pm$ 0,02 <sup>k</sup>	0,47 $\pm$ 0,01 <sup>j</sup>	1,72 $\pm$ 0,09 <sup>k</sup>	2,82 $\pm$ 0,05 <sup>j</sup>	5,50 $\pm$ 0,05 <sup>l</sup>
	Berlinski Halblange Springer	1,00 $\pm$ 0,02 <sup>f</sup>	0,56 $\pm$ 0,02 <sup>h,i</sup>	2,55 $\pm$ 0,01 <sup>g,h</sup>	3,49 $\pm$ 0,07 <sup>d</sup>	7,60 $\pm$ 0,02 <sup>h</sup>

\* As letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias dos três tipos de cultivares, de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ , enquanto que as letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias das cultivares do mesmo tipo de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ .

Curvas de calibração utilizadas: apiose ( $y = 0,925x$ ,  $R^2 = 0,998$ ; Limite de detecção (LOD) = 0,07 mg/mL; Limite de quantificação (LOQ) = 0,21 mg/mL); frutose ( $y = 1,04x$ ,  $R^2 = 0,999$ ; LOD = 0,05 mg/mL; LOQ = 0,18 mg/mL), glucose ( $y = 0,935x$ ,  $R^2 = 0,999$ ; LOD = 0,08 mg/mL; LOQ = 0,25 mg/mL) esacarose ( $y = 0,977x$ ,  $R^2 = 0,999$ ; LOD = 0,06 mg/mL, LOQ = 0,21 mg/mL).

A composição em ácidos orgânicos é apresentada na **Tabela 5**. O ácido málico foi o ácido orgânico encontrado em maior quantidade em todas as cultivares avaliadas, seguido dos ácidos oxálico e cítrico, por sua vez, os ácidos ascórbico e chiquímico foram encontrados em menores quantidades.

Quanto à comparação entre os três tipos de salsa, o tipo de folhas encaracoladas apresentou os teores mais elevados de ácidos málico ( $6,7 \pm 0,1$  g/100 g ms) e cítrico ( $1,65 \pm 0,05$  g/100 g ms) e assim, conseqüentemente teores elevados de ácidos orgânicos totais ( $11,2 \pm 0,2$  g/100 g ms), enquanto que os teores elevados em ácido oxálico foram encontrados nos tipos de folhas encaracoladas ( $2,80 \pm 0,05$  g/100 g ms) e nabo enraizado ( $2,8 \pm 0,4$  g/100 g ms). O teor elevado em ácido ascórbico foi encontrado no tipo de folhas lisas ( $0,024 \pm 0,005$  g/100 g ms), e o ácido chiquímico foi encontrado em maior quantidade no tipo de folhas lisa e nabo enraizado ( $0,044 \pm 0,009$  e  $0,039 \pm 0,007$  g/100 g ms, respectivamente).

Avaliando os resultados em termos de cultivares individuais, nas folhas lisas, na cultivar Rialto Bejo foram encontrados os teores mais elevados de ácidos oxálico e ascórbico ( $1,87 \pm 0,01$  e  $0,030 \pm 0,001$  g/100 g ms, respectivamente), enquanto na cultivar Fest foram encontrados os maiores teores dos ácidos málico e chiquímico ( $5,50 \pm 0,01$  e  $0,050 \pm 0,001$  g/100 g ms, respectivamente), e conseqüentemente, total em ácidos orgânicos ( $8,76 \pm 0,01$  g/100 g ms).

Nas cultivares de folhas encaracoladas, a Depois 1743 apresentou teores elevados de ácido málico e cítrico ( $6,88 \pm 0,01$  e  $1,70 \pm 0,06$  g/100 g ms, respectivamente), a Moss Curled 2 de ácido oxálico e chiquímico ( $2,85 \pm 0,01$  e  $0,030 \pm 0,001$  g/100 g ms, respectivamente), e a Mooskrause de ácido ascórbico ( $0,020 \pm 0,001$  g/100 g ms). A cultivar Linga (folha de nabo enraizado), apresentou os teores mais elevados de ácido málico, chiquímico e ascórbico ( $6,63 \pm 0,01$ ,  $0,060 \pm 0,001$  e  $0,030 \pm 0,001$  g/100 g ms, respectivamente), e por sua vez em ácidos orgânicos totais ( $11,15 \pm 0,01$  g/100 g ms). A Lenka apresentou teores elevados de ácido oxálico e cítrico ( $3,33 \pm 0,01$  e  $1,74 \pm 0,01$  g/100 g ms, respectivamente).

Resultados similares foram obtidos pelos autores Saleh, Selim, Jaouni e AbdElgawad (2018), em que detetaram o ácido málico como o ácido orgânico mais abundante nas folhas de salsa cultivadas na Holanda. No entanto, além dos ácidos cítrico e oxálico, os mesmos autores, também encontraram os ácidos fumárico, isobutírico e succínico. Por outro lado, Gird *et al.* (2018) descreveram teores significativamente elevados de ácido ascórbico nas

folhas de *P. arvensis*, que é uma espécie diferente da salsa, apesar de ter o mesmo nome comum. Além disso, Santamaria, Elia, Serio e Todaro (1999) sugerem que a salsa contém baixas quantidades de oxalatos em comparação com outros vegetais folhosos, tais como o espinafre e acelga (5 e 215 mg/kg massa fresca, respetivamente).

**Tabela5.** Composição em ácidos orgânicos das amostras de folhas de salsa estudadas (g/100 g ms) (média ± DP).

Tipo de cultivar	Nome da cultivar	Ácido oxálico	Ácido málico	Ácido ascórbico	Ácido chiquímico	Ácido cítrico	Ácidos orgânicos totais
<b>Folhas lisas</b>		<b>1,79±0,07<sup>B</sup></b>	<b>5,4±0,1<sup>C</sup></b>	<b>0,024±0,005<sup>A</sup></b>	<b>0,044±0,009<sup>A</sup></b>	<b>1,35±0,05<sup>B</sup></b>	<b>8,6±0,2<sup>C</sup></b>
	Festival 68	1,71±0,01 <sup>e</sup>	5,25±0,01 <sup>e</sup>	0,023±0,001 <sup>c</sup>	0,050±0,001 <sup>b</sup>	1,28±0,01 <sup>e</sup>	8,32±0,01 <sup>e</sup>
	Astra	1,73±0,01 <sup>d</sup>	5,28±0,01 <sup>d</sup>	0,020±0,001 <sup>d</sup>	0,030±0,001 <sup>c</sup>	1,42±0,01 <sup>a</sup>	8,50±0,01 <sup>d</sup>
	Gigante Di Italia	1,82±0,01 <sup>c</sup>	5,48±0,01 <sup>b</sup>	0,020±0,001 <sup>d</sup>	0,040±0,001 <sup>c</sup>	1,33±0,01 <sup>d</sup>	8,69±0,01 <sup>b</sup>
	Fest	1,83±0,01 <sup>b</sup>	5,50±0,01 <sup>a</sup>	0,030±0,001 <sup>b</sup>	0,050±0,001 <sup>a</sup>	1,35±0,01 <sup>c</sup>	8,76±0,01 <sup>a</sup>
	Rialto Bejo	1,87±0,01 <sup>a</sup>	5,37±0,01 <sup>c</sup>	0,030±0,001 <sup>a</sup>	0,050±0,001 <sup>b</sup>	1,36±0,01 <sup>b</sup>	8,68±0,01 <sup>c</sup>
<b>Folhas encaracoladas</b>		<b>2,80±0,05<sup>A</sup></b>	<b>6,7±0,1<sup>A</sup></b>	<b>0,017±0,006<sup>B</sup></b>	<b>0,030±0,001<sup>B</sup></b>	<b>1,65±0,05<sup>A</sup></b>	<b>11,2±0,2<sup>A</sup></b>
	Depuis 1743	2,81±0,01 <sup>b</sup>	6,88±0,01 <sup>a</sup>	0,010±0,001 <sup>c</sup>	0,030±0,001 <sup>c</sup>	1,70±0,06 <sup>a</sup>	11,45±0,06 <sup>a</sup>
	Moss Curled 2	2,85±0,01 <sup>a</sup>	6,69±0,01 <sup>b</sup>	0,020±0,001 <sup>b</sup>	0,030±0,001 <sup>a</sup>	1,63±0,01 <sup>b</sup>	11,23±0,01 <sup>b</sup>
	Mooskrause	2,75±0,01 <sup>c</sup>	6,59±0,01 <sup>c</sup>	0,020±0,001 <sup>a</sup>	0,030±0,001 <sup>b</sup>	1,61±0,01 <sup>b</sup>	11,02±0,01 <sup>c</sup>
<b>Folhas nabo enraizado</b>		<b>2,8±0,4<sup>A</sup></b>	<b>5,9±0,4<sup>B</sup></b>	<b>0,021±0,006<sup>B</sup></b>	<b>0,039±0,007<sup>A</sup></b>	<b>1,4±0,2<sup>B</sup></b>	<b>10,1±0,8<sup>B</sup></b>
	Olomuřicka	3,13±0,01 <sup>d</sup>	5,59±0,01 <sup>i</sup>	0,010±0,001 <sup>a</sup>	0,030±0,001 <sup>b</sup>	1,25±0,01 <sup>k</sup>	10,01±0,01 <sup>b</sup>
	Pólna	3,03±0,01 <sup>e</sup>	6,15±0,01 <sup>e</sup>	0,030±0,001 <sup>b</sup>	0,040±0,001 <sup>g</sup>	1,35±0,01 <sup>i</sup>	10,60±0,01 <sup>d</sup>
	Linga	3,13±0,01 <sup>d</sup>	6,63±0,01 <sup>a</sup>	0,030±0,001 <sup>a</sup>	0,060±0,001 <sup>a</sup>	1,31±0,01 <sup>j</sup>	11,15±0,01 <sup>a</sup>
	Halblange Berlinska	2,85±0,01 <sup>b</sup>	6,61±0,01 <sup>b</sup>	0,020±0,001 <sup>c</sup>	0,040±0,001 <sup>g</sup>	1,23±0,01 <sup>l</sup>	10,75±0,01 <sup>c</sup>
	Osborne	3,01±0,01 <sup>f</sup>	6,50±0,01 <sup>c</sup>	0,020±0,001	0,040±0,001 <sup>f</sup>	1,39±0,01 <sup>h</sup>	10,95±0,03 <sup>b</sup>
	Lenka	3,33±0,01 <sup>a</sup>	5,84±0,01 <sup>f</sup>	0,020±0,001 <sup>d</sup>	0,040±0,001 <sup>c</sup>	1,74±0,01 <sup>a</sup>	10,97±0,01 <sup>b</sup>
	Sonata	2,96±0,01 <sup>g</sup>	5,58±0,01 <sup>i</sup>	0,020±0,001 <sup>d</sup>	0,030±0,001 <sup>b</sup>	1,57±0,01 <sup>d</sup>	10,17±0,01 <sup>f</sup>
	Kařka	3,18±0,01 <sup>b</sup>	5,66±0,01 <sup>h</sup>	0,010±0,001 <sup>b</sup>	0,030±0,001 <sup>b</sup>	1,71±0,01 <sup>b</sup>	10,60±0,01 <sup>d</sup>
	Vistula	3,16±0,01 <sup>c</sup>	5,75±0,01 <sup>g</sup>	0,020±0,001 <sup>h</sup>	0,040±0,001 <sup>c</sup>	1,64±0,01 <sup>c</sup>	10,61±0,01 <sup>d</sup>
	Konika	2,67±0,01 <sup>i</sup>	6,19±0,02 <sup>d</sup>	0,020±0,001 <sup>f</sup>	0,040±0,001 <sup>c</sup>	1,55±0,01 <sup>e</sup>	10,47±0,01 <sup>e</sup>
	Hanacka	2,48±0,01 <sup>l</sup>	6,17±0,01 <sup>d</sup>	0,020±0,001 <sup>c</sup>	0,040±0,001 <sup>c</sup>	1,41±0,01 <sup>f</sup>	10,12±0,01 <sup>g</sup>
	Halblange Eagle	2,20±0,01 <sup>m</sup>	5,46±0,01 <sup>k</sup>	0,020±0,001 <sup>h</sup>	0,040±0,001 <sup>c</sup>	1,40±0,01 <sup>g</sup>	9,13±0,02 <sup>k</sup>
	Cukrowa	2,10±0,01 <sup>o</sup>	5,52±0,01 <sup>j</sup>	0,020±0,001 <sup>g</sup>	0,040±0,001 <sup>c</sup>	1,21±0,01 <sup>m</sup>	8,89±0,01 <sup>m</sup>
	Alba	2,52±0,01 <sup>k</sup>	5,82±0,01 <sup>f</sup>	0,020±0,001 <sup>h</sup>	0,050±0,001 <sup>b</sup>	1,13±0,01 <sup>o</sup>	9,54±0,01 <sup>i</sup>
	Arat	2,58±0,01 <sup>j</sup>	5,51±0,01 <sup>j</sup>	0,020±0,001 <sup>f</sup>	0,030±0,001 <sup>h</sup>	1,16±0,01 <sup>n</sup>	9,31±0,01 <sup>j</sup>
	Root parsley (comum)	2,67±0,01 <sup>i</sup>	5,22±0,01 <sup>l</sup>	0,030±0,001 <sup>c</sup>	0,040±0,001 <sup>d</sup>	1,06±0,01 <sup>p</sup>	9,02±0,02 <sup>l</sup>
	Berlinski Halblange Springer	2,18±0,01 <sup>n</sup>	5,75±0,01 <sup>g</sup>	0,020±0,001 <sup>c</sup>	0,040±0,001 <sup>f</sup>	1,03±0,01 <sup>q</sup>	9,02±0,01 <sup>l</sup>

\* As letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias dos três tipos de cultivares, de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ , enquanto que as

letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias das cultivares do mesmo tipo de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ .

Curvas de calibração utilizadas: ácido oxálico ( $y = 9 \times 10^6x + 459731$ ;  $R^2 = 0,990$ ; LOD = 12,6  $\mu\text{g/mL}$ ; LOQ = 41,8  $\mu\text{g/mL}$ ); ácido málico ( $y = 912441x + 92665$ ;  $R^2 = 0,999$ ; LOD = 35,8  $\mu\text{g/mL}$ ; LOQ = 119,2  $\mu\text{g/mL}$ ); ácido ascórbico ( $y = 7 \times 10^7x + 60489$ ;  $R^2 = 0,999$ ; LOD = 367  $\mu\text{g/mL}$ ; LOQ = 1222  $\mu\text{g/mL}$ ); ácido chiquímico ( $7 \times 10^7x + 175156$ ;  $R^2 = 0,9999$ ; LOD = 10,2  $\mu\text{g/mL}$ ; LOQ = 56,5  $\mu\text{g/mL}$ ) e ácido cítrico ( $y = 1 \times 10^6x + 45682$ ;  $R^2 = 1$ ; LOD = 10,47  $\mu\text{g/mL}$ ; LOQ = 34,91  $\mu\text{g/mL}$ ).

A composição detalhada dos ácidos gordos é apresentada na tabela suplementar (**Tabela A1**), os ácidos gordos mais abundantes e sua classificação são apresentados na **Tabela 6**.

No geral, vinte e um ácidos gordos individuais foram identificados e quantificados nas cultivares estudadas, e verificaram-se diferenças significativas entre os três tipos de cultivares bem como entre as cultivares do mesmo tipo (**Tabela A1**). Os ácidos gordos mais abundantes foram  $\alpha$ -linolénico e linoleico, seguido do ácido palmítico, por sua vez, os ácidos gordos polinsaturados (PUFA) foram a classe mais abundante (**Tabela 6**).

O teor de ácido linoleico foi elevado no tipo nabo enraizado ( $33 \pm 3$  %), sem ser significativamente diferente do tipo de folhas lisas ( $31 \pm 2$  %). Nos três tipos de cultivares (folhas lisas, encaracoladas e nabo enraizado), não se verificaram diferenças significativas nos teores dos ácidos palmítico ( $21 \pm 1$  %,  $21,6 \pm 0,5$  % e  $21 \pm 1$  %, respetivamente) e  $\alpha$ -linoleico ( $32 \pm 3$  %,  $31,6 \pm 0,3$  % e  $31 \pm 3$  %, respetivamente).

Da mesma forma, os PUFA e a proporção de ácidos gordos PUFA/SFA foram elevados no tipo nabo enraizado ( $64 \pm 2$  e  $2,1 \pm 0,2$  %, respetivamente), enquanto que no tipo de folhas encaracoladas foi encontrado o maior teor de SFA ( $34,6 \pm 0,6$  %).

Por fim, o teor em ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) foi elevado no tipo de folhas nabo enraizado ( $6 \pm 1$  %), sem ser significativamente diferente do tipo de folhas lisas ( $5,8 \pm 0,6$  %). Não foram observadas diferenças significativas na proporção de ácidos gordos  $\omega 6/\omega 3$  ( $n6/n3$ ) entre os três tipos de cultivares (folhas lisas, encaracoladas e nabo enraizado:  $1,0 \pm 0,1$  %,  $0,92 \pm 0,05$  % e  $1,1 \pm 0,2$  %, respetivamente).

A maioria dos estudos existentes na literatura dizem respeito à composição em ácidos gordos dos óleos e extratos de sementes da salsa (Mert & Timur, 2017; Farzaei *et al.*, 2013).

Saleh *et al.*(2018) mencionam quantidades significativas de ácido hexadecanóico (ou palmítico) e octadecatrienóico (ou  $\alpha$ -linolénico) e, teores semelhantes aos encontrados no nosso estudo de ácidos gordos saturados e insaturados.

**Tabela 6.** Composição em ácidos gordos (%) das amostras de folhas de salsa estudadas (média±DP). Os ácidos gordos mais abundantes, a classificação e o rácio relativo são apresentados.

Tipo de cultivar	Nome da cultivar	C16:0	C18:2n6c	C18:3n3	SFA	MUFA	PUFA	PUFA/SFA	n6/n3
<b>Folhas lisas</b>		<b>21±1<sup>A</sup></b>	<b>31±2<sup>A,B</sup></b>	<b>32±3<sup>A</sup></b>	<b>32±1<sup>B</sup></b>	<b>5,8±0,6<sup>A</sup></b>	<b>63±2<sup>B</sup></b>	<b>2,0±0,1<sup>B</sup></b>	<b>1,0±0,1<sup>A</sup></b>
	Festival 68	22,7±0,5 <sup>a</sup>	32,07±0,01 <sup>a</sup>	28,6±0,2 <sup>e</sup>	32,5±0,2 <sup>a</sup>	6,77±0,05 <sup>a</sup>	60,7±0,1 <sup>d</sup>	1,87±0,02 <sup>c</sup>	1,12±0,01 <sup>a</sup>
	Astra	20,12±0,02 <sup>d</sup>	30,08±0,06 <sup>c</sup>	33,2±0,2 <sup>b</sup>	31,2±0,4 <sup>b</sup>	5,3±0,1 <sup>c</sup>	63,5±0,3 <sup>b</sup>	2,03±0,03 <sup>b</sup>	0,91±0,01 <sup>c</sup>
	Gigante Di Italia	21,5±0,8 <sup>b,c</sup>	30,6±0,5 <sup>b</sup>	31,96±0,07 <sup>c</sup>	31,5±0,7 <sup>b</sup>	5,8±0,2 <sup>b</sup>	62,7±0,4 <sup>c</sup>	1,99±0,06 <sup>b</sup>	0,96±0,02 <sup>b</sup>
	Fest	21,9±0,2 <sup>a,b</sup>	32,2±0,1 <sup>a</sup>	28,9±0,1 <sup>d</sup>	32,9±0,1 <sup>a</sup>	5,9±0,1 <sup>b</sup>	61,2±0,2 <sup>d</sup>	1,86±0,01 <sup>c</sup>	1,11±0,01 <sup>a</sup>
	Rialto Bejo	20,90±0,04 <sup>c,d</sup>	28,13±0,01 <sup>d</sup>	36,18±0,06 <sup>a</sup>	30,07±0,07 <sup>c</sup>	5,33±0,01 <sup>c</sup>	64,57±0,03 <sup>a</sup>	2,15±0,01 <sup>a</sup>	0,78±0,01 <sup>d</sup>
<b>Folhas encaracoladas</b>		<b>21,6±0,5<sup>A</sup></b>	<b>29±1<sup>B</sup></b>	<b>31,6±0,3<sup>A</sup></b>	<b>34,6±0,6<sup>A</sup></b>	<b>4,4±1<sup>B</sup></b>	<b>61±1<sup>C</sup></b>	<b>1,76±0,05<sup>C</sup></b>	<b>0,92±0,05<sup>A</sup></b>
	Depuis 1743	21,8±0,2 <sup>a</sup>	29,16±0,07 <sup>b</sup>	31,69±0,01 <sup>a</sup>	33,86±0,01 <sup>c</sup>	5,14±0,04 <sup>a</sup>	61,01±0,05 <sup>b</sup>	1,80±0,01 <sup>a</sup>	0,92±0,01 <sup>b</sup>
	Moss Curled 2	21,9±0,8 <sup>a</sup>	27,6±0,1 <sup>c</sup>	31,8±0,1 <sup>a</sup>	35,2±0,1 <sup>a</sup>	5,17±0,08 <sup>a</sup>	59,6±0,2 <sup>c</sup>	1,69±0,01 <sup>b</sup>	0,87±0,01 <sup>c</sup>
	Mooskrause	21,11±0,01 <sup>a</sup>	30,6±0,6 <sup>a</sup>	31,3±0,3 <sup>b</sup>	34,8±0,1 <sup>b</sup>	2,88±0,01 <sup>b</sup>	62,3±0,2 <sup>a</sup>	1,79±0,01 <sup>a</sup>	0,98±0,03 <sup>a</sup>
<b>Folhas nabo enraizado</b>		<b>21±1<sup>A</sup></b>	<b>33±3<sup>A</sup></b>	<b>31±3<sup>A</sup></b>	<b>30±2<sup>C</sup></b>	<b>6±1<sup>A</sup></b>	<b>64±2<sup>A</sup></b>	<b>2,1±0,2<sup>A</sup></b>	<b>1,1±0,2<sup>A</sup></b>
	Olomuńcka	21,9±0,1 <sup>a,b</sup>	32,1±0,1 <sup>f</sup>	31,07±0,04 <sup>f</sup>	31,7±0,1 <sup>b,c</sup>	4,98±0,05 <sup>h</sup>	63,35±0,06 <sup>f,g,h</sup>	2,00±0,01 <sup>g,h</sup>	1,03±0,01 <sup>g</sup>
	Pólna	21,26±0,04 <sup>c</sup>	32,3±0,2 <sup>f</sup>	30,8±0,3 <sup>f,g</sup>	32,0±0,2 <sup>b</sup>	4,74±0,08 <sup>i</sup>	63,2±0,1 <sup>g,h</sup>	1,97±0,01 <sup>h</sup>	1,05±0,02 <sup>f,g</sup>
	Linga	21,38±0,03 <sup>b,c</sup>	34,42±0,06 <sup>d</sup>	30,30±0,03 <sup>g,h</sup>	28,66±0,07 <sup>h</sup>	6,38±0,03 <sup>d</sup>	64,96±0,1 <sup>c,d</sup>	2,27±0,01 <sup>c</sup>	1,14±0,01 <sup>d</sup>
	Halblange Berlinska	20,0±0,7 <sup>d</sup>	30,1±0,3 <sup>h,i</sup>	32,7±0,4 <sup>d,e</sup>	30,96±0,7 <sup>d,e,f</sup>	6,04±0,04 <sup>e</sup>	63,00±0,7 <sup>h,i</sup>	2,04±0,07 <sup>f,g,h</sup>	0,92±0,01 <sup>h,i</sup>
	Osborne	20,1±0,6 <sup>d</sup>	30,4±0,3 <sup>h,i</sup>	36,2±0,4 <sup>a</sup>	28,5±0,8 <sup>h,i</sup>	4,66±0,04 <sup>i</sup>	66,9±0,7 <sup>a</sup>	2,35±0,09 <sup>b</sup>	0,84±0,01 <sup>l</sup>
	Lenka	21,50±0,01 <sup>b,c</sup>	32,27±0,07 <sup>f</sup>	29,7±0,3 <sup>h</sup>	33,23±0,2 <sup>a</sup>	4,38±0,08 <sup>j</sup>	62,39±0,3 <sup>ij</sup>	1,88±0,02 <sup>i</sup>	1,09±0,01 <sup>e</sup>
	Sonata	20,15±0,28 <sup>d</sup>	29,5±0,2 <sup>j</sup>	34,7±0,4 <sup>b</sup>	31,2±0,1 <sup>c,d,e</sup>	4,31±0,06 <sup>j</sup>	64,5±0,2 <sup>d,e</sup>	2,07±0,02 <sup>f,g</sup>	0,85±0,02 <sup>k,l</sup>
	Kaška	20,2±0,3 <sup>d</sup>	31,4±0,2 <sup>g</sup>	33,03±0,08 <sup>c,d</sup>	30,26±0,07 <sup>g</sup>	4,96±0,07 <sup>h</sup>	64,8±0,1 <sup>c,d</sup>	2,14±0,01 <sup>d,e</sup>	0,95±0,01 <sup>h</sup>
	Vistula	19,2±0,8 <sup>e</sup>	30,44±0,06 <sup>h</sup>	34,6±0,7 <sup>b</sup>	30,2±0,6 <sup>g</sup>	4,43±0,01 <sup>j</sup>	65,4±0,6 <sup>b,c</sup>	2,16±0,06 <sup>d</sup>	0,88±0,02 <sup>j,k</sup>
	Konika	21,22±0,01 <sup>c</sup>	40,1±0,2 <sup>a</sup>	26,5±0,4 <sup>j</sup>	27,1±0,1 <sup>j</sup>	6,25±0,05 <sup>d</sup>	66,7±0,2 <sup>a</sup>	2,46±0,02 <sup>a</sup>	1,51±0,03 <sup>a</sup>
	Hanacka	21,64±0,07 <sup>b,c</sup>	39,32±0,07 <sup>b</sup>	26,42±0,08 <sup>j</sup>	27,8±0,1 <sup>i</sup>	6,2±0,3 <sup>d,e</sup>	66,0±0,2 <sup>b</sup>	2,37±0,01 <sup>b</sup>	1,49±0,01 <sup>a</sup>

Halblange Eagle	19,12±0,01 <sup>e</sup>	29,93±0,08 <sup>ij</sup>	33,6±0,1 <sup>c</sup>	30,75±0,03 <sup>e,f,g</sup>	5,55±0,01 <sup>f</sup>	63,71±0,04 <sup>f,g</sup>	2,07±0,01 <sup>e,f</sup>	0,89±0,01 <sup>ij</sup>
Cukrowa	20,24±0,01 <sup>d</sup>	30,50±0,04 <sup>h</sup>	32,3±0,1 <sup>e</sup>	31,57±0,08 <sup>b,c,d</sup>	5,35±0,03 <sup>g</sup>	63,1±0,1 <sup>g,h</sup>	2,00±0,01 <sup>h</sup>	0,94±0,01 <sup>h</sup>
Alba	19,20±0,02 <sup>e</sup>	31,4±0,5 <sup>g</sup>	30,6±0,4 <sup>f,g</sup>	30,62±0,04 <sup>e,f,g</sup>	7,19±0,01 <sup>c</sup>	62,20±0,02 <sup>j</sup>	2,03±0,01 <sup>f,g,h</sup>	1,03±0,03 <sup>g</sup>
Arat	20,03±0,01 <sup>d</sup>	33,02±0,01 <sup>e</sup>	30,67±0,02 <sup>f,g</sup>	30,47±0,04 <sup>f,g</sup>	5,62±0,01 <sup>f</sup>	63,91±0,03 <sup>e,f</sup>	2,10±0,01 <sup>d,e,f</sup>	1,08±0,01 <sup>e,f</sup>
Root parsley(comum)	22,58±0,18 <sup>a</sup>	34,3±0,2 <sup>d</sup>	26,41±0,04 <sup>j</sup>	30,6±0,2 <sup>e,f,g</sup>	8,49±0,02 <sup>a</sup>	60,9±0,2 <sup>k</sup>	1,99±0,02 <sup>h</sup>	1,30±0,01 <sup>b</sup>
Berlinski Halblange Springer	22,58±0,03 <sup>a</sup>	34,9±0,5 <sup>c</sup>	28,5±0,4 <sup>i</sup>	28,43±0,01 <sup>hi</sup>	7,94±0,08 <sup>b</sup>	63,63±0,07 <sup>f,g,h</sup>	2,24±0,01 <sup>c</sup>	1,22±0,03 <sup>c</sup>

C16:0 - ácido palmítico; C18:2n6c - ácido linoléico; C18:3n3 - ácido alfa-linolénico; SFA: ácidos gordos saturados; MUFA: ácidos gordos monoinsaturados; PUFA: ácidos gordos polinsaturados; n6/n3: rácio de ácidos gordos ómega-6/ómega-3.

\* As letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias dos três tipos de cultivares, de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ , enquanto que as letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias das cultivares do mesmo tipo de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ .

A composição em tocoferóis é apresentada na **Tabela 7**. As isoformas da vitamina E detetadas foram o  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferóis, sendo a primeira o tocoferol mais abundante em todas as cultivares testadas. Além disso, não foram observadas diferenças significativas no teor de  $\alpha$ -tocoferol e no teor total de tocoferóis entre os tipos de folhas lisas e de nabo enraizado.

O conteúdo de  $\gamma$ -tocoferol foi elevado no tipo de folhas lisas ( $26,1 \pm 0,8$  mg/100 g ms). Em termos de cultivares individuais, as cultivares Festival 68 e Gigante Di Italia apresentaram teores elevados de  $\alpha$ - ( $27,18 \pm 0,05$  mg/100 g ms) e  $\gamma$ -tocoferóis ( $6,67 \pm 0,01$  mg/100 g ms), respetivamente, sem diferir significativamente no de tocoferóis totais ( $32,74 \pm 0,08$  e  $32,83 \pm 0,05$  mg/100 g ms, respetivamente).

Em relação às cultivares de folhas encaracoladas, a Depois 1743 apresentou teores elevados  $\alpha$  e  $\gamma$ -tocoferóis ( $15,83 \pm 0,06$  e  $4,76 \pm 0,04$  mg/100 g ms, respetivamente) e, conseqüentemente, no conteúdo de tocoferóis totais ( $20,6 \pm 0,1$  mg/100 g ms), enquanto a cultivar Mooskrause teve um conteúdo semelhante relativamente ao  $\gamma$ -tocoferol ( $4,71 \pm 0,01$  mg/100 g ms).

No que se refere às cultivares de nabo enraizado, a Vistula e a Halblange Eagle foram as que apresentaram teores mais elevados de  $\alpha$ -tocoferol ( $30,24 \pm 0,01$  e  $30,32 \pm 0,01$  mg/100 g ms, respetivamente) e de tocoferóis totais ( $34,99 \pm 0,04$  e  $35,02 \pm 0,02$  mg/100 g ms, respetivamente), enquanto a Linga e Lenka apresentaram o conteúdo mais elevado de  $\gamma$ -tocoferol ( $5,28 \pm 0,04$  e  $5,30 \pm 0,06$  mg/100 g ms, respetivamente).

Resultados semelhantes ao nosso estudo foram obtidos pelos autores Gómez-Coronado, Ibañez, Rupérez e Barbas (2004), que detetaram as isoformas  $\alpha$  e  $\gamma$ -tocoferol nas folhas de salsa cultivadas em estufa, na Espanha. No estudo de Saleh *et al.*, (2018), identificaram o  $\alpha$ -tocoferol como a isoforma da vitamina E mais abundante, e para além dos  $\alpha$  e  $\gamma$ -tocoferóis, os autores também detetaram o  $\beta$ - e  $\delta$ -tocoferóis mas em quantidades vestigiais. Além disso, Samuolienė *et al.*, (2016) detetaram quantidades significativas de  $\alpha$ -tocoferol em microvegetais de salsa e sugeriram que a intensidade de luz vermelha e o comprimento de onda podem afetar significativamente o seu conteúdo.



**Tabela 7.** Composição em tocoferóis das amostras de folhas de salsa estudadas (mg/100 g ms) (média  $\pm$  DP).

Tipo de cultivar	Nome da cultivar	$\alpha$ -Tocoferol	$\gamma$ -Tocoferol	Tocoferóis totais
<b>Folhas lisas</b>		<b>26,1<math>\pm</math>0,8<sup>A</sup></b>	<b>5<math>\pm</math>1<sup>A</sup></b>	<b>31<math>\pm</math>2<sup>A</sup></b>
	Festival 68	27,18 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	5,56 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	32,74 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
	Astra	26,04 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	3,95 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	29,99 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
	Gigante Di Italia	26,15 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>	6,67 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	32,83 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
	Fest	24,88 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	4,23 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>	29,11 $\pm$ 0,07 <sup>d</sup>
	Rialto Bejo	26,31 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	4,51 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	30,83 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>
<b>Folhas encaracoladas</b>		<b>15,1<math>\pm</math>0,5<sup>B</sup></b>	<b>4,71<math>\pm</math>0,05<sup>B</sup></b>	<b>19,8<math>\pm</math>0,6<sup>B</sup></b>
	Depuis 1743	15,83 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	4,76 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	20,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
	Moss Curled 2	14,76 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	4,67 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	19,42 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
	Mooskrause	14,72 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	4,71 $\pm$ 0,01 <sup>a,b</sup>	19,43 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
<b>Folhas nabo enraizado</b>		<b>26<math>\pm</math>2<sup>A</sup></b>	<b>4<math>\pm</math>1<sup>B</sup></b>	<b>30<math>\pm</math>3<sup>A</sup></b>
	Olomuńcka	23,91 $\pm$ 0,02 <sup>l</sup>	3,15 $\pm$ 0,04 <sup>g</sup>	27,07 $\pm$ 0,02 <sup>m</sup>
	Pólna	27,58 $\pm$ 0,07 <sup>c</sup>	5,08 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	32,66 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup>
	Linga	28,92 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	5,28 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	34,21 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>
	Halblange Berlinska	24,20 $\pm$ 0,08 <sup>k</sup>	3,14 $\pm$ 0,02 <sup>g</sup>	27,34 $\pm$ 0,06 <sup>l</sup>
	Osborne	23,93 $\pm$ 0,03 <sup>l</sup>	4,34 $\pm$ 0,06 <sup>e</sup>	28,27 $\pm$ 0,03 <sup>k</sup>
	Lenka	26,44 $\pm$ 0,01 <sup>g</sup>	5,30 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	31,74 $\pm$ 0,06 <sup>f</sup>
	Sonata	27,12 $\pm$ 0,08 <sup>e</sup>	5,14 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	32,27 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>
	Kaśka	27,26 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	4,76 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	32,03 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>
	Vistula	30,24 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	4,75 $\pm$ 0,05 <sup>c,d</sup>	34,99 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
	Konika	24,90 $\pm$ 0,07 <sup>j</sup>	4,73 $\pm$ 0,03 <sup>c,d</sup>	29,63 $\pm$ 0,04 <sup>h</sup>
	Hanacka	25,52 $\pm$ 0,04 <sup>i</sup>	3,50 $\pm$ 0,03 <sup>f</sup>	29,02 $\pm$ 0,01 <sup>j</sup>
	Halblange Eagle	30,32 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	4,70 $\pm$ 0,02 <sup>c,d</sup>	35,02 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
	Cukrowa	27,12 $\pm$ 0,07 <sup>e</sup>	2,30 $\pm$ 0,02 <sup>j</sup>	29,42 $\pm$ 0,05 <sup>i</sup>
	Alba	27,05 $\pm$ 0,04 <sup>e,f</sup>	2,64 $\pm$ 0,01 <sup>h</sup>	29,69 $\pm$ 0,03 <sup>h</sup>
	Arat	27,01 $\pm$ 0,04 <sup>f</sup>	2,37 $\pm$ 0,01 <sup>i</sup>	29,38 $\pm$ 0,04 <sup>i</sup>
	Root parsley (comum)	22,46 $\pm$ 0,06 <sup>m</sup>	2,14 $\pm$ 0,01 <sup>k</sup>	24,61 $\pm$ 0,06 <sup>n</sup>
	Berlinski Halblange Springer	25,65 $\pm$ 0,07 <sup>h</sup>	4,68 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	30,33 $\pm$ 0,09 <sup>g</sup>

\* As letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias dos três tipos de cultivares, de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ , enquanto que as letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias das cultivares do mesmo tipo de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ . Curvas de calibração

utilizadas:  $\alpha$ -tocoferol ( $y = 1,295x$ ;  $R^2 = 0,991$ ; LOD: 18,06 ng/mL, LOQ: 60,20 ng/mL) e  $\gamma$ -tocoferol ( $y = 0,567x$ ;  $R^2 = 0,991$ ; LOD: 14,79 ng/mL, LOQ: 49,32 ng/mL).

Os resultados relativos à identificação e quantificação de compostos fenólicos são apresentados nas **Tabelas 7 e 8**, respectivamente. Nos três tipos de folhas foram identificados e quantificados sete compostos, sendo três derivados da apigenina, tentativamente identificados como apigenina-*O*-pentósido-*O*-hexósido (**pico 1**;  $\lambda_{\max}$  336 nm;  $[M-H]^-$  com  $m/z$  563) e apigenina-*O*-acetil -hexosil-pentósido isômeros I e II (**picos 4 e 5**;  $\lambda_{\max} \sim 340$  nm;  $[M-H]^-$  com  $m/z$  605). Além disso, quatro derivados de kaempferol também foram identificados como kaempferol-3-*O*-rutinósido (**pico 2**;  $\lambda_{\max}$  342 nm;  $[M-H]^-$  com  $m/z$  593, identificado com base num padrão comercial), kaempferol-*O*-desoxihexosil -hexósido (**pico 3**;  $\lambda_{\max}$  343 nm;  $[M-H]^-$  com  $m/z$  593) e kaempferol-*O*-acetil-hexosil-pentósido isômeros I e II (**picos 6 e 7**;  $\lambda_{\max} \sim 343$  nm;  $[M-H]^-$  com  $m/z$  635).

Da mesma forma, El-Zaeddi *et al.*, (2017) e Slimestad, Fossen & Brede (2020) identificaram vários glucosídeos flavonóides (apigenina, isorhamnetina, diosmetina e os seus derivados), enquanto nenhuma outra classe de polifenóis foi detetada. A presença de derivados de apigenina e kaempferol também foram encontrados nos extratos de folhas de *P. crispum* (Epifanio *et al.*, 2020). Porém, estes autores também encontraram outros compostos fenólicos em relação ao nosso estudo, nomeadamente, luteolina, crioseriol, quercetina e derivados de isoramnetina, num total de 30 compostos. Em contraste, Nour, Trandafir, e Cosmulescu (2017) identificaram a miricetina e quercetina como os compostos fenólicos maioritários nas folhas de salsa, e identificaram também vários ácidos fenólicos em quantidades consideráveis (ácido salicílico, sinápico, ferúlico e elágico). De acordo com Mazzucotelli *et al.* (2018), a catequina foi o composto fenólico livre mais abundante, enquanto o ácido *p*-cúmarico e a rutina foram identificados como polifenóis ligados.

Assim, os teores mais elevados de compostos identificados em outros estudos podem estar relacionados com o método de extração implementado, bem como outros fatores mencionados anteriormente (genótipo, condições de cultivo, época de colheita, práticas de cultivo, entre outros), que podem alterar a composição química e os metabolitos secundários no perfil das plantas. Além disso, Grúz *et al.*, (2015) identificaram os ácidos hidroxicinâmico, cumárico, ferúlico e sinápico em folhas de salsa e, sugeriram que esses compostos são suscetíveis à oxidação e degradação, o que pode afetar a sua identificação.

Em relação à quantificação de compostos fenólicos, o composto maioritário foi a apigenina-*O*-pentósido-*O*-hexósido (20±6, 22±2, 13±4 mg/g de extrato nos tipos de folha lisas,

encaracoladas e nabo enraizado, respetivamente). Em particular, os teores superiores de flavonóides foram detetados na cultivar Rialto Bejo (folha lisa,  $41,3 \pm 0,3$  mg/g extrato), Mooskrause (folha encaracolada,  $36,8 \pm 0,5$  mg/g extrato) e Alba (nabo enraizado,  $46 \pm 1$  mg/g extrato), indicando uma grande diversidade entre os genótipos testados.

Ao considerar as médias gerais de cada tipo, foram observadas diferenças significativas apenas nos compostos individuais e não no teor de compostos fenólicos totais. De acordo com o nosso estudo, Jadcak, Bojko, Wysocka e Szymańska (2019), descreveram diferenças significativas no conteúdo de polifenóis totais entre vários cultivares de salsa do tipo encaracolada. Em geral, os derivados de apigenina foram os principais compostos encontrados noutros estudos, como por exemplo no de Pápay *et al.*, (2012), em que a apigenina e seus glicosídeos foram os fenólicos mais abundantes. De acordo com Patel *et al.*, (2007), a apigenina é um poderoso agente quimiopreventivo, apresentando relevante atividade antiproliferativa e propriedades que favorecem a apoptose. Além disso, os derivados de apigenina também podem prevenir a oxidação, regular o sistema imunológico e controlar a sinalização celular. Da mesma forma, os derivados do kaempferol desempenham um papel fundamental na saúde, havendo estudos que descrevem os benefícios antioxidantes, cardioprotetoras, anti-tumorais, anti-inflamatórias e neuroprotetoras (Calderón-Montaña, Burgos-Morón, Pérez-Guerrero, & López-Lázaro, 2011).

O nosso estudo revelou teores de compostos fenólicos totais no extrato hidroalcoólicos de  $29 \pm 7$  mg/g de extrato (folha lisa),  $32 \pm 4$  mg/g de extrato (folha encaracolada) e  $28 \pm 8$  mg/g de extrato (nabo enraizado), não apresentando diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tipos estudados.

**Tabela 8.** Tempos de retenção (Rt), comprimentos de onda de absorção máxima na região do visível ( $\lambda_{\max}$ ), dados espectrais de massa e tentativa de identificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos hidroalcoólicos das cultivares de folhas de salsa (média  $\pm$  SD,  $n=3$ ).

Pico	Rt (min)	$\lambda_{\max}$ (nm)	[M-H] <sup>-</sup> (m/z)	MS <sup>2</sup> (m/z)	Tentativa de identificação
1	21.08	336	563	431(21), 269(100)	Apigenina- <i>O</i> -pentósido- <i>O</i> -hexósido
2	22.49	342	593	285(100)	Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinosídeo
3	23.58	343	593	285(100)	Kaempferol- <i>O</i> -desoxihexose-hexosídeo
4	24.47	340	605	563(100), 269(51)	Apigenina- <i>O</i> -acetil-hexosil-pentósido isómero I
5	26.14	338	605	563(100), 269(48)	Apigenina- <i>O</i> -acetil-hexosil-pentósido isómero II
6	27.06	342	635	593(55), 285(100)	Kaempferol- <i>O</i> -acetil-hexosido-pentósido isómero I
7	27.77	343	635	593(57), 285(100)	Kaempferol- <i>O</i> -acetil-hexosil-pentósido isómero II

**Table 8.** Quantificação (mg/g de extrato) dos compostos fenólicos presentes nos extratos hidroalcoólicos das cultivares de folhas de salsa (média±DP, *n* = 3).

Tipo de cultivar	Nome da cultivar	Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 4	Pico 5	Pico 6	Pico 7	Σ flavonoides
<b>Folhas lisas</b>		<b>20±6<sup>A</sup></b>	<b>0,8±0,4<sup>B</sup></b>	<b>1,3±0,5<sup>B</sup></b>	<b>1,1±0,6<sup>B</sup></b>	<b>5±1<sup>C</sup></b>	<b>0,22±0,09<sup>B</sup></b>	<b>0,3±0,1<sup>B</sup></b>	<b>29±7<sup>A</sup></b>
	Festival 68	16,1±0,4 <sup>d</sup>	0,92±0,05 <sup>b</sup>	0,92±0,05 <sup>c</sup>	0,49±0,02 <sup>e</sup>	3,94±0,02 <sup>c</sup>	0,225±0,007 <sup>b</sup>	0,125±0,003 <sup>c</sup>	22,7±0,4 <sup>c</sup>
	Astra	19,5±0,3 <sup>c</sup>	0,48±0,02 <sup>c</sup>	0,97±0,04 <sup>c</sup>	0,92±0,02 <sup>e</sup>	6,6±0,2 <sup>a</sup>	0,211±0,001 <sup>b</sup>	0,36±0,01 <sup>a</sup>	29,1±0,6 <sup>b</sup>
	Gigante Di Italia	14,1±0,2 <sup>c</sup>	0,29±0,02 <sup>d</sup>	0,750±0,001 <sup>d</sup>	0,79±0,06 <sup>d</sup>	5,2±0,3 <sup>b</sup>	0,118±0,006 <sup>d</sup>	0,205±0,002 <sup>b</sup>	21,4±0,4 <sup>d</sup>
	Fest	21,3±0,3 <sup>b</sup>	0,939±0,004 <sup>b</sup>	2,0±0,1 <sup>a</sup>	1,21±0,06 <sup>b</sup>	3,23±0,01 <sup>d</sup>	0,162±0,001 <sup>c</sup>	0,37±0,02 <sup>a</sup>	29,2±0,4 <sup>b</sup>
	Rialto Bejo	30,3±0,2 <sup>a</sup>	1,26±0,01 <sup>a</sup>	1,74±0,03 <sup>b</sup>	2,14±0,04 <sup>a</sup>	5,2±0,1 <sup>b</sup>	0,37±0,02 <sup>a</sup>	0,38±0,02 <sup>a</sup>	41,3±0,3 <sup>a</sup>
<b>Folhas encaracoladas</b>		<b>22±2<sup>A</sup></b>	<b>1,5±0,9<sup>A</sup></b>	<b>0,7±0,1<sup>C</sup></b>	<b>1,2±0,2<sup>A,B</sup></b>	<b>6±6<sup>A,B</sup></b>	<b>0,6±0,5<sup>A</sup></b>	<b>0,11±0,04<sup>B</sup></b>	<b>32±4<sup>A</sup></b>
	Depuis 1743	24,0±0,1 <sup>a</sup>	0,362±0,008 <sup>c</sup>	0,566±0,007 <sup>c</sup>	1,04±0,01 <sup>c</sup>	5,8±0,2 <sup>b</sup>	0,094±0,006 <sup>c</sup>	0,059±0,005 <sup>c</sup>	31,9±0,4 <sup>b</sup>
	Moss Curled 2	19,27±0,04 <sup>c</sup>	1,58±0,01 <sup>b</sup>	0,82±0,02 <sup>a</sup>	1,14±0,09 <sup>b</sup>	4,0±0,2 <sup>c</sup>	0,42±0,02 <sup>b</sup>	0,101±0,002 <sup>b</sup>	27,3±0,3 <sup>c</sup>
	Mooskrause	23,6±0,3 <sup>b</sup>	2,59±0,03 <sup>a</sup>	0,69±0,03 <sup>b</sup>	1,49±0,03 <sup>a</sup>	7,08±0,04 <sup>a</sup>	1,14±0,02 <sup>a</sup>	0,163±0,002 <sup>a</sup>	36,8±0,5 <sup>a</sup>
<b>Folhas nabo enraizado</b>		<b>13±4<sup>B</sup></b>	<b>0,7±0,4<sup>B</sup></b>	<b>2,2±0,6<sup>A</sup></b>	<b>1,8±0,9<sup>A</sup></b>	<b>8±3<sup>A</sup></b>	<b>0,8±0,4<sup>A</sup></b>	<b>1,9±0,7<sup>A</sup></b>	<b>28±8<sup>A</sup></b>
	Olomuńcka	20,1±0,4 <sup>a</sup>	1,66±0,07 <sup>a</sup>	2,0±0,2 <sup>c,f</sup>	1,6±0,1 <sup>e</sup>	7,3±0,3 <sup>f</sup>	1,00±0,04 <sup>c</sup>	0,90±0,06 <sup>h</sup>	35±1 <sup>d</sup>
	Pólna	11,5±0,5 <sup>f</sup>	0,39±0,01 <sup>j</sup>	2,4±0,1 <sup>c,d</sup>	1,9±0,1 <sup>d</sup>	11,4±0,6 <sup>d</sup>	0,89±0,05 <sup>d,e</sup>	2,66±0,03 <sup>b</sup>	31±1 <sup>e</sup>
	Linga	15,1±0,3 <sup>c</sup>	0,76±0,03 <sup>e</sup>	3,2±0,1 <sup>a</sup>	1,86±0,01 <sup>d</sup>	5,7±0,2 <sup>h,i</sup>	0,71±0,05 <sup>g,h</sup>	1,61±0,03 <sup>e</sup>	28,8±0,5 <sup>f</sup>
	Halblange Berlinska	11,4±0,2 <sup>f</sup>	0,49±0,04 <sup>h</sup>	1,9±0,2 <sup>f,g</sup>	1,02±0,05 <sup>h,i</sup>	5,4±0,3 <sup>h,i</sup>	0,502±0,004 <sup>j</sup>	1,3±0,1 <sup>f</sup>	22,0±0,4 <sup>h</sup>
	Osborne	11,8±0,3 <sup>f</sup>	0,58±0,05 <sup>g</sup>	2,8±0,2 <sup>b</sup>	1,36±0,09 <sup>f,g</sup>	6,19±0,01 <sup>g,h</sup>	0,621±0,001 <sup>i</sup>	1,67±0,04 <sup>e</sup>	25,0±0,3 <sup>g</sup>
	Lenka	9,7±0,5 <sup>h</sup>	0,300±0,001 <sup>k</sup>	1,74±0,06 <sup>g</sup>	0,90±0,04 <sup>i</sup>	8,7±0,1 <sup>e</sup>	0,839±0,007 <sup>c,f</sup>	2,1±0,1 <sup>c</sup>	24,3±0,2 <sup>g</sup>
	Sonata	11,3±0,3 <sup>f</sup>	0,44±0,02 <sup>ij</sup>	2,2±0,1 <sup>d,e</sup>	1,29±0,04 <sup>g</sup>	6,5±0,2 <sup>f,g</sup>	0,59±0,04 <sup>i</sup>	1,64±0,02 <sup>e</sup>	24,0±0,1 <sup>g</sup>
	Kaśka	14,1±0,4 <sup>d</sup>	0,567±0,003 <sup>g</sup>	2,84±0,05 <sup>b</sup>	1,56±0,01 <sup>e</sup>	6,7±0,2 <sup>f,g</sup>	0,66±0,05 <sup>h,i</sup>	2,24±0,06 <sup>c</sup>	28,7±0,8 <sup>f</sup>
	Vistula	12,5±0,3 <sup>c</sup>	0,28±0,02 <sup>k</sup>	2,5±0,1 <sup>c</sup>	0,64±0,02 <sup>j</sup>	4,1±0,3 <sup>j</sup>	0,23±0,01 <sup>k</sup>	0,97±0,03 <sup>g,h</sup>	21,2±0,8 <sup>h</sup>
	Konika	9,8±0,2 <sup>h</sup>	0,46±0,01 <sup>h,i</sup>	1,34±0,06 <sup>h</sup>	1,13±0,04 <sup>h</sup>	7,0±0,1 <sup>f,g</sup>	0,75±0,04 <sup>f,g</sup>	1,57±0,01 <sup>e</sup>	22,1±0,5 <sup>h</sup>

Hanacka	14,0±0,3 <sup>d</sup>	0,67±0,01 <sup>f</sup>	2,04±0,04 <sup>e,f</sup>	2,34±0,09 <sup>e</sup>	7,0±0,1 <sup>f</sup>	0,82±0,04 <sup>e,f</sup>	1,84±0,07 <sup>d</sup>	28,7±0,3 <sup>f</sup>
Halblange Eagle	11,3±0,2 <sup>f</sup>	0,77±0,02 <sup>e</sup>	2,10±0,01 <sup>e</sup>	2,2±0,1 <sup>e</sup>	8,9±0,4 <sup>e</sup>	0,93±0,04 <sup>e,d</sup>	2,2±0,2 <sup>c</sup>	28,5±0,4 <sup>f</sup>
Cukrowa	10,6±0,1 <sup>g</sup>	0,66±0,02 <sup>f</sup>	1,74±0,03 <sup>g</sup>	1,50±0,05 <sup>e,f</sup>	5,25±0,01 <sup>i</sup>	0,63±0,02 <sup>h,i</sup>	1,56±0,09 <sup>e</sup>	21,9±0,2 <sup>h</sup>
Alba	19,5±0,4 <sup>a</sup>	1,12±0,01 <sup>c</sup>	3,26±0,09 <sup>a</sup>	3,65±0,01 <sup>a</sup>	13,7±0,8 <sup>b</sup>	1,64±0,01 <sup>a</sup>	3,16±0,01 <sup>a</sup>	46±1 <sup>a</sup>
Arat	4,6±0,3 <sup>i</sup>	0,22±0,01 <sup>l</sup>	0,62±0,01 <sup>i</sup>	0,95±0,03 <sup>i</sup>	4,24±0,02 <sup>j</sup>	0,31±0,01 <sup>k</sup>	1,11±0,02 <sup>g</sup>	12,0±0,3 <sup>i</sup>
Root parsley (comum)	15,7±0,1 <sup>b,c</sup>	0,96±0,02 <sup>d</sup>	2,21±0,01 <sup>d,e</sup>	2,9±0,2 <sup>b</sup>	12,3±0,6 <sup>c</sup>	1,33±0,04 <sup>b</sup>	2,56±0,01 <sup>b</sup>	38,0±0,6 <sup>c</sup>
Berlinski Halblange Springer	15,8±0,3 <sup>b</sup>	1,20±0,01 <sup>b</sup>	2,15±0,02 <sup>e</sup>	3,50±0,06 <sup>a</sup>	14,6±0,8 <sup>a</sup>	1,7±0,1 <sup>a</sup>	3,3±0,1 <sup>a</sup>	42,2±0,7 <sup>b</sup>

Σ – somatório; \*As letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias dos três tipos de cultivares, de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ , enquanto que as letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias das cultivares do mesmo tipo de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ . Curvas de calibração utilizadas: 1, 4 e 5- apigenina-6-*C*-glucósido ( $y = 107025x + 61531$ ,  $R^2 = 0,998$ ); 2, 3, 6 e 7 quercetina-3-*O*-rutinósido- ( $388345x + 406369$ ,  $R^2 = 0,9939$ ).

Os resultados obtidos para a atividade antioxidante (TBARS e OxHLIA), são apresentados na **Tabela 10**. Em relação ao ensaio de TBARS, os três tipos de folhas apresentaram atividade antioxidante relevante, com valores de  $EC_{50}$  variando de 1,5 a 1,6 mg/mL, não apresentando diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre eles.

Por outro lado, em relação ao ensaio OxHLIA, as folhas encaracoladas apresentaram a menor atividade anti-hemolítica (valores de  $IC_{50}$  de  $366 \pm 91 \mu\text{g/mL}$  no  $\Delta t = 60$  min) comparativamente com os outros dois tipos de folhas, enquanto que o tipo de folhas lisas e nabo enraizado apresentaram a atividade mais elevada no  $\Delta t = 60$  min (valores de  $IC_{50}$  de  $112 \pm 49$  e  $118 \pm 66 \mu\text{g/mL}$ , respetivamente).

Em relação às diferenças encontradas entre as cultivares do mesmo tipo, Festival 68, Mooskrause e Vistula apresentaram a maior atividade no ensaio TBARS para os tipos de folha lisa ( $0,79 \pm 0,03$  mg/mL), encaracolada ( $0,77 \pm 0,03$  mg/mL) e nabo enraizado ( $0,82 \pm 0,01$  mg/mL), respetivamente.

Da mesma forma, para o ensaio OxHLIA, a cultivar Fest (folha lisa) e Moss Curled 2 (folha encaracolada) foram as mais efetivas no  $\Delta t = 60$  min e 90 min ( $48 \pm 1$  e  $288 \pm 9 \mu\text{g/mL}$ , respetivamente). As cultivares de nabo enraizado, Linga, Halblange Berlinska, Vistula e Lenka foram as mais efetivas no  $\Delta t = 60$  min, enquanto a Linga, Halblange Berlinska, Vistula e Kaška foram igualmente eficazes no  $\Delta t = 90$  min.

Há estudos que descrevem a atividade antioxidante das folhas de *P. crispum*. Por exemplo, Nielsen *et al.*, (1999) incluíram folhas de salsa encaracolada (frescas ou incluídas nas refeições) na dieta diária de 14 pessoas durante uma semana. Os resultados deste estudo demonstraram uma intensificação das enzimas antioxidantes comparativamente com os níveis apresentados pelo grupo que recebeu a dieta básica (controlo). Para estes autores, a apigenina foi o composto responsável por esses resultados, o que também está de acordo com nosso estudo, considerando os elevados teores dos derivados da apigenina encontrados nas espécies estudadas.

A atividade antioxidante do extrato aquoso de *P. crispum* também foi estudada por Epifanio *et al.*, (2020) através do ensaio de atividade captadora de radicais de DPPH obtiveram valores de  $EC_{50}$  de 15,5 mg/mL, o que está de acordo com a elevada atividade antioxidante desta espécie. Além disso, no mesmo estudo, foi sugerido que a apiína (flavonóide natural, diglicósido da flavona apigenina) e a apigenina apresentam proteção elevada na peroxidação lipídica determinada pelo ensaio TBARS (Epifanio *et al.*, 2020).

**Tabela 10.** Atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos das amostras de folhas de salsa estudadas (média±DP).

Tipo de cultivar	Nome da cultivar	TBARS	OxHLIA (IC <sub>50</sub> , µg/mL)	
		(EC <sub>50</sub> , mg/mL)	Δt = 60 min	Δt = 120 min
<b>Folhas lisas</b>		<b>1,6±0,5<sup>A</sup></b>	<b>112±49<sup>B</sup></b>	<b>204±140<sup>B</sup></b>
	Festival 68	0,79±0,03 <sup>c</sup>	88±2 <sup>d</sup>	114±2 <sup>c,d</sup>
	Astra	1,74±0,08 <sup>b</sup>	126±2 <sup>b</sup>	205±3 <sup>b</sup>
	Gigante Di Italia	1,98±0,06 <sup>a</sup>	106±3 <sup>c</sup>	150±3 <sup>b,c</sup>
	Fest	1,93±0,03 <sup>a</sup>	48±1 <sup>e</sup>	90±1 <sup>d</sup>
	Rialto Bejo	1,78±0,01 <sup>b</sup>	190±13 <sup>a</sup>	462±21 <sup>a</sup>
<b>Folhas encaracoladas</b>		<b>1,5±0,6<sup>A</sup></b>	<b>366±91<sup>A</sup></b>	<b>521±95<sup>A</sup></b>
	Depuis 1743	1,82±0,05 <sup>a</sup>	325±9 <sup>b</sup>	507±10 <sup>b</sup>
	Moss Curled 2	1,9±0,1 <sup>a</sup>	288±9 <sup>b</sup>	421±9 <sup>c</sup>
	Mooskrause	0,77±0,03 <sup>b</sup>	484±12 <sup>a</sup>	636±13 <sup>a</sup>
<b>Folhas de nabo enraizado</b>		<b>1,5±0,3<sup>A</sup></b>	<b>118±66<sup>B</sup></b>	<b>173±96<sup>B</sup></b>
	Olomuńcka	0,99±0,02 <sup>h</sup>	175±4 <sup>b</sup>	239±4 <sup>b</sup>
	Pólna	1,99±0,09 <sup>a</sup>	101±3 <sup>d,e,f</sup>	150±3 <sup>f,g</sup>
	Linga	1,62±0,05 <sup>c,d</sup>	69±2 <sup>h</sup>	105±2 <sup>i</sup>
	Halblange Berlinska	1,51±0,08 <sup>e,f</sup>	70±2 <sup>h</sup>	99±2 <sup>i</sup>
	Osborne	1,68±0,09 <sup>c</sup>	92±2 <sup>f,g</sup>	146±3 <sup>f,g</sup>
	Lenka	1,65±0,05 <sup>c,d</sup>	78±1 <sup>g,h</sup>	109±2 <sup>i</sup>
	Sonata	1,57±0,08 <sup>d,e</sup>	98±4 <sup>d,e,f</sup>	158±6 <sup>f</sup>
	Kaśka	1,43±0,07 <sup>f</sup>	64±2 <sup>h</sup>	117±2 <sup>h,i</sup>
	Vistula	0,82±0,01 <sup>i</sup>	78±2 <sup>g,h</sup>	117±2 <sup>h,i</sup>
	Konika	1,29±0,07 <sup>g</sup>	112±4 <sup>d</sup>	157±6 <sup>f</sup>
	Hanacka	1,42±0,08 <sup>f</sup>	109±5 <sup>d,e</sup>	159±8 <sup>e,f</sup>
	Halblange Eagle	1,43±0,09 <sup>f</sup>	107±6 <sup>d,e,f</sup>	145±9 <sup>f,g</sup>
	Cukrowa	1,64±0,06 <sup>c,d</sup>	138±3 <sup>c</sup>	179±4 <sup>d,e</sup>
	Alba	1,26±0,05 <sup>g</sup>	96±4 <sup>e,f</sup>	135±4 <sup>g,h</sup>
	Arat	1,84±0,08 <sup>b</sup>	351±15 <sup>a</sup>	524±18 <sup>a</sup>
	Root parsley (Comum)	1,50±0,03 <sup>e,f</sup>	139±6 <sup>c</sup>	213±12 <sup>c</sup>
	Berlinski Halblange Springer	1,86±0,05 <sup>b</sup>	130±3 <sup>c</sup>	187±4 <sup>d</sup>
	Trox	0,0196±0,001	19,6±0,7	41±1

\* As letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias dos três tipos de cultivares, de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ , enquanto que as letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferenças significativas entre as médias das cultivares do mesmo tipo de acordo com o teste de Tukey HSD em que  $p = 0,05$ .

As propriedades antimicrobianas dos extratos hidroalcoólicos dos três tipos de folhas de *P. crispum* estão apresentadas na **Tabela 11**. De acordo com os resultados, a melhor atividade foi observada contra a estirpe *E. coli*, em que os extratos das várias cultivares do tipo de folhas lisas e nabo enraizado, apresentaram a concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB) semelhantes ao controlo positivo (E224). Além disso, a maioria das cultivares de folha lisa (exceto a Rialto Bejo), apresentaram atividade antibacteriana elevada contra a estirpe *S. aureus*, com valores de CMI comparáveis ao E224. Resultados semelhantes foram observados para as cultivares nabo enraizado, Olomuńcka, Pólna, Lenka, Kaśka, Cucrowas e Alba.

Para a estirpe *B. cereus* e *S. Tympthimurium*, verificou-se uma resposta variada e apenas cultivares específicas pertencentes aos três tipos estudados apresentaram valores de CMI semelhantes ao E224.

Em contraste, todos os extratos apresentaram menor atividade contra as estirpes *L. monocytogenes* e *E. cloacae*, em comparação com os controles positivos utilizados, principalmente o E224.

A atividade antibacteriana do óleo da salsa contra várias estirpes foi descrita por vários autores (Linde *et al.*, 2016; Snoussi, Dehmani, Noumi, Flamini, & Papetti, 2016), enquanto que extratos etanólicos de folhas e sementes apresentaram eficácia contra as estirpes *S. typhi*, *S. aureus* e *K. pneumonia* (Abdu & Hauwa, 2019; Farah, Elbadrawy, & Al-atoom, 2019).

A atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos das folhas são apresentados na **Tabela 12**. Todos os extratos apresentaram atividade antifúngica com diferentes CMI e concentração fungicida mínima (CFM) contra os diferentes fungos avaliados. Os resultados mais interessantes foram observados contra as estirpes *A. fumigatus* e *P. verrucosum* var. *ciclópico* onde várias cultivares apresentaram maior eficácia comparativamente com os controlos positivos (E211 e E224). Além disso, os valores de CMI de vários extratos foram maiores do que os controles positivos contra as estirpes *A. ochraceus*, *A. versicolor* e *T. viride*. Os extratos de cultivares específicas apresentaram valores de CMI semelhantes aos controles positivos contra a estirpe *P. funiculosum*, enquanto os valores de CFM foram menores do que os controles. A atividade antifúngica de *P. Crispum* foi anteriormente descrita por Abdu e Hauwa (2019), e também observaram eficácia contra a estirpe *Mucor*, *A. flavus* e *Candida albicans*, confirmando assim a eficiência antimicrobiana da salsa contra uma ampla gama de microrganismos.



**Tabela 11.** Atividade antibacteriana (concentração mínima de inibição (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB) (mg/mL) dos extratos hidroalcoólicos das amostras de folhas de salsa estudadas.

Tipo de cultivar	Nome da cultivar		<i>S. aureus</i> (ATCC 11632)	<i>B. cereus</i> (isolado clínico)	<i>L. monocytogenes</i> (NCTC 7973)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	<i>S. typhimurium</i> (ATCC 13311)	<i>En. cloacae</i> (ATCC 35030)
Folhas lisas	Festival 68	CMI	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00	2.00
		CMB	2.00	2.00	2.00	2.00	4.00	4.00
	Astra	CMI	1.00	0.50	1.00	1.00	1.00	1.00
		CMB	2.00	1.00	2.00	2.00	2.00	2.00
	Gigante Di Italia	CMI	1.00	1.00	2.00	1.00	2.00	2.00
		CMB	2.00	2.00	4.00	2.00	4.00	4.00
	Fest	CMI	1.00	0.50	1.00	0.50	2.00	2.00
		CMB	2.00	1.00	2.00	1.00	4.00	4.00
	Rialto Bejo	CMI	4.00	1.00	1.00	0.50	1.00	2.00
		CMB	8.00	2.00	2.00	1.00	2.00	4.00
Folhas encaracoladas	Depuis 1743	CMI	2.00	0.50	1.00	1.00	1.00	1.00
		CMB	4.00	1.00	2.00	2.00	2.00	2.00
	Moss Curled 2	CMI	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
		CMB	4.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
	Mooskrause	CMI	4.00	1.00	2.00	1.00	1.00	2.00
		CMB	8.00	2.00	4.00	2.00	2.00	4.00
Folhas nabo enraizado	Olomuňcka	CMI	1.00	0.50	1.00	1.00	2.00	1.00
		CMB	2.00	1.00	2.00	2.00	4.00	2.00
	Pólna	CMI	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00	2.00
		CMB	2.00	2.00	2.00	2.00	4.00	4.00
	Linga	CMI	4.00	1.00	1.00	0.50	1.00	1.00
		CMB	8.00	2.00	2.00	1.00	2.00	2.00
	Halblange Berlinska	CMI	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
		CMB	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
	Osborne	CMI	4.00	2.00	2.00	1.00	2.00	4.00
		CMB	8.00	4.00	4.00	2.00	4.00	8.00
	Lenka	CMI	1.00	1.00	1.00	0.50	1.00	2.00
		CMB	2.00	2.00	2.00	1.00	2.00	4.00
	Sonata	CMI	2.00	0.50	1.00	0.50	1.00	1.00
		CMB	4.00	1.00	2.00	1.00	2.00	2.00

Kaśka	<b>CMI</b>	4.00	1.00	1.00	0.50	1.00	2.00	
	<b>CMB</b>	8.00	2.00	2.00	1.00	2.00	4.00	
Vistula	<b>CMI</b>	1.00	1.00	1.00	0.50	1.00	1.00	
	<b>CMB</b>	2.00	2.00	2.00	1.00	2.00	2.00	
Konika	<b>CMI</b>	2.00	2.00	1.00	1.00	1.00	4.00	
	<b>CMB</b>	4.00	4.00	2.00	2.00	2.00	8.00	
Hanacka	<b>CMI</b>	2.00	1.00	1.00	2.00	1.00	2.00	
	<b>CMB</b>	4.00	2.00	2.00	4.00	2.00	4.00	
Halblange Eagle	<b>CMI</b>	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
	<b>CMB</b>	4.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	
Cukrowa	<b>CMI</b>	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00	2.00	
	<b>CMB</b>	2.00	2.00	2.00	2.00	4.00	4.00	
Alba	<b>CMI</b>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
	<b>CMB</b>	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	
Arat	<b>CMI</b>	4.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	
	<b>CMB</b>	8.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	
Root parsley (comum)	<b>CMI</b>	2.00	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
	<b>CMB</b>	4.00	4.00	2.00	2.00	2.00	2.00	
Berlinski Halblange Springer	<b>CMI</b>	2.00	1.00	1.00	0.50	1.00	1.00	
	<b>CMB</b>	4.00	2.00	2.00	1.00	2.00	2.00	
<b>Controlos positivos</b>	<b>E211</b>	<b>CMI</b>	4.00	0.50	1.00	1.00	1.00	2.00
		<b>CMB</b>	4.00	0.50	2.00	2.00	2.00	4.00
	<b>E224</b>	<b>CMI</b>	1.0	2.0	0.5	0.5	1.0	0.5
		<b>CMB</b>	1.0	4.0	1.0	1.0	1.0	0.5

E211 - benzoato de sódio, E224 - metabissulfito de potássio.

**Tabela 12.** Atividade antifúngica (concentração mínima de inibição (CMI) e concentração fungicida mínima (CFM) mg/mL) dos extratos hidroalcoólicos das amostras de folhas de salsa estudadas.

Tipo de cultivar	Nome da cultivar		<i>A. ochraceus</i> (ATCC 12066)	<i>A. versicolor</i> (ATCC 11730)	<i>A. fumigatus</i> (ATCC 9197)	<i>P. funiculosum</i> (ATCC 36839)	<i>P. verrucosum</i> var. <i>cyclopium</i> (isolado alimentar)	<i>T. viride</i> (IAM 5061)
Folhas lisas	Festival 68	CMI	1.00	0.50	0.50	0.50	0.50	1.00
		CFM	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00
	Astra	CMI	1.00	0.50	0.50	0.50	0.50	1.00
		CFM	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00
	Gigante Di Italia	CMI	2.00	2.00	2.00	1.00	1.00	1.00
		CFM	4.00	4.00	4.00	2.00	2.00	2.00
	Fest	CMI	4.00	2.00	4.00	1.00	2.00	1.00
		CFM	8.00	4.00	8.00	2.00	4.00	2.00
	Rialto Bejo	CMI	0.50	0.50	0.25	0.50	0.50	0.25
		CFM	1.00	1.00	0.50	1.00	1.00	0.50
Folhas encaracoladas	Depuis 1743	CMI	2.00	1.00	2.00	4.00	1.00	1.00
		CFM	4.00	2.00	4.00	8.00	2.00	2.00
	Moss Curled 2	CMI	4.00	2.00	4.00	2.00	2.00	1.00
		CFM	8.00	4.00	8.00	4.00	4.00	2.00
	Mooskrause	CMI	0.50	0.50	0.25	0.50	0.50	0.25
		CFM	1.00	1.00	0.50	1.00	1.00	0.50
Folhas nabo enraizado	Olomuńcka	CMI	2.00	1.00	2.00	4.00	4.00	1.00
		CFM	4.00	2.00	4.00	8.00	8.00	2.00
	Pólna	CMI	4.00	2.00	2.00	2.00	1.00	1.00
		CFM	8.00	4.00	4.00	4.00	2.00	2.00
	Linga	CMI	1.00	2.00	4.00	4.00	2.00	0.50
		CFM	2.00	4.00	8.00	8.00	4.00	1.00
	Halblange Berlinska	CMI	1.00	4.00	2.00	2.00	2.00	0.50
		CFM	2.00	8.00	4.00	4.00	4.00	1.00
	Osborne	CMI	2.00	4.00	2.00	1.00	1.00	2.00
		CFM	4.00	8.00	4.00	2.00	2.00	4.00
Lenka	CMI	2.00	2.00	1.00	1.00	2.00	1.00	
	CFM	4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	2.00	
Sonata	CMI	2.00	4.00	2.00	4.00	2.00	1.00	

	<b>CFM</b>	4.00	8.00	4.00	8.00	4.00	2.00	
Kaśka	<b>CMI</b>	4.00	4.00	4.00	2.00	2.00	0.50	
	<b>CFM</b>	8.00	8.00	8.00	4.00	4.00	1.00	
Vistula	<b>CMI</b>	2.00	4.00	1.00	2.00	4.00	1.00	
	<b>CFM</b>	4.00	8.00	2.00	4.00	8.00	2.00	
Konika	<b>CMI</b>	1.00	2.00	4.00	4.00	2.00	1.00	
	<b>CFM</b>	2.00	4.00	8.00	8.00	4.00	2.00	
Hanacka	<b>CMI</b>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.25	
	<b>CFM</b>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.50	
Halblange Eagle	<b>CMI</b>	0.50	0.50	0.25	0.50	0.25	0.25	
	<b>CFM</b>	1.00	1.00	0.50	1.00	0.50	0.50	
Cukrowa	<b>CMI</b>	0.50	0.50	0.25	0.50	0.25	0.25	
	<b>CFM</b>	1.00	1.00	0.50	1.00	0.50	0.50	
Alba	<b>CMI</b>	1.00	1.00	1.00	1.00	0.50	0.50	
	<b>CFM</b>	2.00	2.00	2.00	2.00	1.00	1.00	
Arat	<b>CMI</b>	1.00	1.00	0.50	0.50	0.50	0.50	
	<b>CFM</b>	2.00	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
Root parsley (comum)	<b>CMI</b>	0.50	0.50	0.25	0.50	0.50	0.25	
	<b>CFM</b>	1.00	1.00	0.50	1.00	1.00	0.50	
Berlinski Halblange Springer	<b>CMI</b>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	
	<b>CFM</b>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
<b>Controlos positivos</b>	<b>E211</b>	<b>CMI</b>	1.00	2.00	1.00	1.00	2.00	1.00
		<b>CFM</b>	2.00	4.00	2.00	2.00	4.00	2.00
	<b>E224</b>	<b>CMI</b>	1.00	1.00	1.00	0.50	1.00	0.50
		<b>CFM</b>	1.00	1.00	1.00	0.50	1.00	0.50

E211 - benzoato de sódio, E224 - metabissulfito de potássio.

## 5 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

### 5.1. Conclusão

Neste estudo, pretendeu-se avaliar as propriedades nutricionais e químicas de três tipos de cultivares da planta *P. crispum* pertencente à família Apiaceae, dando ênfase à parte frequentemente consumida na culinária, as folhas (nomeadamente lisas, encaracoladas e nabo enraizado). Adicionalmente, foi avaliada a atividade bioativa dos extratos hidroalcoólicos.

Os resultados do nosso estudo indicaram grande variabilidade nos parâmetros referentes ao valor nutricional e composição química das cultivares de salsa, indicando assim, o elevado potencial na valorização das cultivares existentes.

Nos parâmetros nutricionais foram observadas diferenças significativas entre os 3 tipos de cultivares (exceto para o teor de glúcidos), o ácido orgânico mais abundante encontrado foi o ácido málico, os teores de açúcares livres totais não diferiram significativamente sendo o maioritário a sacarose, o  $\alpha$ -tocoferol foi a isoforma maioritária, e os ácidos  $\alpha$ -linolénico e linoleico foram os ácidos gordos maioritários encontrados em todas as cultivares.

Sete compostos fenólicos foram identificados em todas as cultivares, sendo a apigenina-*O*-pentósido-*O*-hexósido o composto maioritário. A sua composição, rica em derivados de apigenina e kaempferol, é apontada como responsável pela elevada capacidade antioxidante, o que se verificou neste estudo.

Além disso, os nossos resultados indicam que as folhas de salsa também apresentam relevante atividade antimicrobiana contra uma variedade de bactérias e fungos.

A realização deste trabalho permitiu apresentar resultados inovadores em relação à caracterização nutricional, química e propriedades bioativas dos três tipos de folhas de salsa.

Na região Mediterrânica, as folhas são colhidas principalmente das cultivares de folhas lisas, enquanto as folhas encaracoladas e nabo enraizado são mais comuns na Europa do Norte e Central. Os resultados obtidos, estimulam e encorajam o cultivo de tipos alternativos de salsa, aumentando assim a agrobiodiversidade da região mediterrânea através da introdução de cultivares de folhas encaracoladas e nabo enraizado, juntamente com os génotipos de folhas lisas já estabelecidos.

Assim, dada a sua composição em compostos de interesse, deve-se incentivar a valorização desta planta na dieta, quer através do seu consumo em pratos, quer pela incorporação em alimentos menos convencionais, representando um desenvolvimento científico importantíssimo ao estímulo de uma alimentação equilibrada e diversificada.

## **5.2. Perspectivas futuras**

Seria interessante, dar continuidade ao estudo de forma a explorar o potencial bioativo, aplicando os extratos da salsa como substitutos de aditivos químicos com função conservante, ou até mesmo como biofilme para aumentar a vida útil dos alimentos *in natura*, uma vez que apresentam atividade antibacteriana e antifúngica relevante. Para além disso, aproveitar a composição rica em nutrientes para agregar valor nutritivo a produtos.

**BIBLIOGRAFIA**

- Abel, S. D. A., & Baird, S. K. (2018). Honey is cytotoxic towards prostate cancer cells but interacts with the MTT reagent: Considerations for the choice of cell viability assay. *Food Chemistry*, 241, 70–78.
- Abdu, K., & Hauwa, D. G. (2019). In vitro evaluation of the antioxidant and antimicrobial activity of leaf extracts of *Petroselinum crispum* (Parsley).
- Áćimović, M. G., Kostadinović, L. M., Popović, S. J., & Dojćinović, N. S. (2015). Apiaceae seeds as functional food. *Journal of Agricultural Sciences*, 60, 237-246.
- Adeleke, R., Nwangburuka, C., & Oboirien, B. (2017). Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. *South African Journal of Botany*. 108, 393-406.
- Agyare, C., Appiah, T., Boakye, Y.D., Apenteng, J.A. (2017). *Petroselinum crispum*: A review. In Medicinal Spices and Vegetables from Africa - Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases. Chapter 25, 527-547.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D.G., Lightfoot., D.A. (2017). Review, Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*, 6, 42.
- AOAC International (2016). Official Methods of Analysis of AOAC, 20th; George, W.L., Jr., Ed.; AOAC, International: Rockville, MD, USA, 2016.
- Ajebli, M., & Eddouks, M. (2019). Antihypertensive activity of *Petroselinum crispum* through inhibition of vascular calcium channels in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 112039.
- Ammar, A. E., Esmat, A., Hassona, M. D., Tadros, M. G., Abdel-Naim, A. B., & Guns, E. S. T. (2015). The effect of pomegranate fruit extract on testosterone-induced BPH in rats. *The Prostate*, 75, 679-692.
- Artoli, G. G., Solis, M. Y., Solis, M. Y. Tritto, A. C., & Franchini, E., Lancha H. A. (2013). Nutrition in combat sports. In Nutrition and Enhanced Sports Performance (pp. 115-127). Academic Press.
- Aued-Pimentel, S. (2007). Avaliação de procedimentos analíticos para a determinação de lipídios e ácidos graxos em produtos alimentícios. São Paulo: Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

- Azevedo, H. I. V. (2014). *Composição química da folha e do caule de Calamintha baetica. Efeito do solvente na extração de compostos antioxidantes*. Instituto Politécnico de Bragança, Bragança.
- Barata, A. M., Rocha, F., Lopes, V., Bettencourt, E., & Figueiredo, A. C. (2011). Medicinal and aromatic plants–Portugal. *Medicinal and aromatic plants of The World, Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*. Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford, <http://www.eolss.net>.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). *Biological effects of essential oils—a review. Food and chemical toxicology*, 46, 446-475.
- Benelli, G., Pavela, R., Iannarelli, R., Petrelli, R., Cappellacci, L., Cianfaglione, K., ... & Maggi, F. (2017). Synergized mixtures of Apiaceae essential oils and related plant-borne compounds: larvicidal effectiveness on the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* Say. *Industrial crops and products*, 96, 186-195.
- Bessada, S. M. F., Barreira, J. C. M., Barros, L., Ferreira, I. C. F. R., & Oliveira, M. B. P. P. (2016). Phenolic profile and antioxidant activity of *Coleostephus myconis* (L.) Rchb.f.: An underexploited and highly disseminated species. *Industrial Crops and Products*, 89, 45–51.
- Biesalski, H. K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., ... & Weber, P. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition*, 25, 1202-1205.
- Boldizsár, I., Füzfai, Z., & Molnár-Perl, I. (2013). Characterization of the endogenous enzymatic hydrolyses of *Petroselinum crispum* glycosides: determined by chromatography upon their sugar and flavonoid products. *Journal of Chromatography A*, 1293, 100-106.
- Caleja, A., Ribeiro, A., Barreiro, M.F., Ferreira, I.C.F.R. (2017). Review, Phenolic Compounds as Nutraceuticals or Functional Food Ingredients. *Current Pharmaceutical Design*, 23, 2787-2806.
- Combs Jr, G. F., & McClung, J. P. (2016). *The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health*. Academic press.
- Costa, G., Grangeia, H., Figueirinha, A., Figueiredo, I. V., & Batista, M. T. (2016). Influence of harvest date and material quality on polyphenolic content and antioxidant activity of *Cymbopogon citratus* infusion. *Industrial Crops and Products*, 83, 738-745.



- Chauhan, E.S. & Aishwarya, J. (2018). Nutraceuticals Potential of *Petroselinum Crispum*: A Review. *Journal of Complementary Medicine and Alternative Healthcare*, 7, 1-6.
- Charles, D. J. (2012). *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources*. Springer Science & Business Media.
- Chaves, D.S.A., Frattani, F.S., Asafim, M., Almeida, A.P., Zingali, R.B., Costa, S.S. (2011). Phenolic Chemical Composition of *Petroselinum crispum* Extract and Its Effect on Haemostasis. *Natural Product Communications*, 6, 961 – 964
- Christensen, L. P., & Brandt, K. (2006). Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: occurrence, bioactivity and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41, 683-693.
- Culex quinquefasciatus* Say and *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Industrial crops and products*, 109, 603-610.
- Dadan, M., Rybak, K., Wiktor, A., Nowacka, M., Zubernik, J., & Witrowa-Rajchert, D. (2018). Selected chemical composition changes in microwave-convective dried parsley leaves affected by ultrasound and steaming pre-treatments—An optimization approach. *Food chemistry*, 239, 242-251.
- Daly, T., Jiwan, M. A., O'Brien, N. M., & Aherne, S. A. (2010). Carotenoid content of commonly consumed herbs and assessment of their bioaccessibility using an in vitro digestion model. *Plant foods for human nutrition*, 65, 164-169.
- DeMan, J. M. (1990). Principles of food chemistry (2nd ed.). *New York: Chapman & Hall*.
- Dias, M.I., Carochó, M., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R. (2019). Phenolic Compound: Flavonoids in Legumes in *Legumes - Nutritional Quality, Processing and Potential Health Benefits*. Chapter 3, Royal Society of Chemistry, ISBN: 978-1-78801-161-7
- Dobričević, N., Šic Žlabur, J., Voća, S., Pliestić, S., Galić, A., Delić, A., & Fabek Uher, S. (2019). Bioactive compounds content and nutritional potential of different parsley parts (*Petroselinum crispum* Mill.). *Journal of Central European Agriculture*, 20, 900-910.
- Downie, S. R., Plunkett, G. M., Watson, M. F., Spalik, K., Katz-Downie, D. S., Valiejo-Roman, C. M., ... & El-Oqlah, A. (2001). Tribes and clades within Apiaceae subfamily Apioideae: the contribution of molecular data. *Edinburgh Journal of Botany*, 58, 301-330.

- Eddouks, M., Ajebli, M., & Hebi, M. (2017). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (Province of Errachidia), Morocco. *Journal of ethnopharmacology*, 198, 516-530.
- El Gindy, A. A., Youssef, M. E., & Youssif, M. R. G. (2017). Effect of adding drying parsley leaves on processing and quality of crackers. *Middle East Journal of Applied Science & Technology*, 7, 421-429.
- El-Zaedi, H., Calín-Sánchez, Á., Martínez-Tomé, J., Noguera-Artiaga, L., Burló, F., Carbonell-Barrachina, Á.A. (2016). Irrigation dose and plant density affect the essential oil content and sensory quality of parsley (*Petroselinum sativum*). *Scientia Horticulturae*, 206, 1–6.
- Epifanio, N. M., Cavalcanti, L. R. I., dos Santos, K. F., Duarte, P. S. C., Kachlicki, P., Ożarowski, M., ... & de Almeida Chaves, D. S. (2020). Chemical characterization and in vivo antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) aqueous extract. *Food & Function*, 11, 5346.
- Farah, H., Elbadrawy, E., & Al-Atoom, A. A. (2015). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of ethanolic extracts of Parsley (*Petroselinum erispum*) and Coriander (*Coriandrum sativum*) plants grown in Saudi Arabia. *International Journal of Advanced Research*, 3, 1244-55.
- Farzaei, M. H., Abbasabadi, H, Ardekani, M. R. S., Rahimi, R., & Farzaei, F. (2013). Parsley: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. *Journal of traditional Chinese medicine*, 33, 815-826.
- Fennema, O. R. (2000). *Food Chemistry*. Food Chemistry (3rd ed.). New York: Acribia
- Florão, A. (2006). Avaliação de atividades biológicas de óleos essenciais de quatro espécies de Baccharis, Asteraceae.
- García-Chavarría, M., & Lara-Flores, M. (2013). The use of carotenoid in aquaculture. *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 8, 38-49.
- Gebhardt, Y., Witte, S., Forkmann, G., Lukačín, R., Matern, U., & Martens, S. (2005). Molecular evolution of flavonoid dioxygenases in the family Apiaceae. *Phytochemistry*, 66, 1273-1284.
- Gîrd, C. E., Nencu, I., DUȚU, L. E., POPESCU, L., Costea, T., & Neagu, A. F. (2018). HPLC evaluation of the ascorbic acid content of romanian fruits and vegetables from retail markets. *Farmacia*, 66, 894-898.

- Golubkina, N. A., Kharchenko, V. A., Moldovan, A. I., Koshevarov, A. A., Zamana, S., Nadezhkin, S., ... & Caruso, G. (2020). Yield, Growth, Quality, Biochemical Characteristics and Elemental Composition of Plant Parts of Celery Leafy, Stalk and Root Types Grown in the Northern Hemisphere. *Plants*, 9, 484.
- Gómez-Coronado, D. J., Ibanez, E., Rupérez, F. J., & Barbas, C. (2004). Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. *Journal of Chromatography A*, 1054, 227-233.
- Graf, B. A., Milbury, P. E., & Blumberg, J. B. (2005). Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. *Journal of medicinal food*, 8, 281-290.
- Grúz, J., Pospíšil, J., Kozubíková, H., Pospíšil, T., Doležal, K., Bunzel, M., & Strnad, M. (2015). Determination of free diferulic, disinapic and dicoumaric acids in plants and foods. *Food chemistry*, 171, 280-286.
- Gunjan, M., Naing, T.W., Saini, S.R., Ahmad, A., Naidu, J.R., Kumar, I. (2015). Tendências de marketing e perspectivas futuras da fitoterapia no tratamento de várias doenças. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 32-155
- Henley, E. C., Taylor, J. R. N., & Obukosia, S. D. (2010). The importance of dietary protein in human health: Combating protein deficiency in sub-Saharan Africa through transgenic biofortified sorghum. In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 60, pp. 21-52). Academic Press.
- Heredia, Z., Néstor, A., Vieira, M. D. C., Weismann, M., & Lourenção, A. L. (2003). Bunching onion and parsley yield and gross income in mono-cropping and inter-cropping system. *Horticultura Brasileira*, 21, 574-577.
- Horžić, D., Komes, D., Belščak, A., Ganić, K. K., Iveković, D., & Karlović, D. (2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food chemistry*, 115, 441-448.
- Jadcak, D., Bojko, K., Wysocka, G., & Szymanska, M. (2019). Yield and biological properties of leaf parsley (*Petroselinum Crispum* (Mill.) Nym. Ex AW Hille Convar. *Journal of Elementology*, 24(2).
- Khalil, E., Esoh, R., Rababah, T., Almajwal, A. M., & Alu, M. H. (2012). Minerals, proximate composition and their correlations of medicinal plants from Jordan. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 5757-5762.
- Latimer, G. W. (2016). *Official methods of analysis of AOAC International*. AOAC International, Rockville, MD, USA.

- Linde, G.A., Gazim, Z.C., Cardoso, B.K., Jorge, L.F., Tešević, V., Glamočlija, J., Soković M., Colauto, N.B. Antifungal and antibacterial activities of *Petroselinum crispum* essential oil. *Genetics and Molecular Research*, 15, 15.
- Liu, H., Kang, Y., Zhao, X., Liu, Y., Zhang, X., & Zhang, S. (2019). Effects of elicitation on bioactive compounds and biological activities of sprouts. *Journal of functional foods*, 53, 136-145.
- Lockowandt, L., Pinela, J., Roriz, C. L., Pereira, C., Abreu, R. M., Calhella, R. C., ... & Ferreira, I. C. (2019). Chemical features and bioactivities of cornflower (*Centaurea cyanus* L.) capitula: The blue flowers and the unexplored non-edible part. *Industrial Crops and Products*, 128, 496-503.
- Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Antioxidant potential of two Apiaceae plant extracts: A comparative study focused on the phenolic composition. *Industrial Crops and Products*, 79, 188–194.
- Calderón-Montaño, J., Burgos-Morón, E., Pérez-Guerrero, C., & López-Lázaro, M. (2011). A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 11, 298-344.
- Mazzucotelli, C. A., González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Domínguez-Avila, A. J., Ansorena, M. R., & Di Scala, K. C. (2018). Chemical characterization and functional properties of selected leafy vegetables for innovative mixed salads. *Journal of Food Biochemistry*, 42, e12461.
- Mert, A., & Timur, M. (2017). Essential oil and fatty acid composition and antioxidant capacity and total phenolic content of parsley seeds (*Petroselinum crispum*) grown in Hatay region. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51, 437-440.
- Monsen, E. R. (2000). Dietary reference intakes for the antioxidant nutrients Vitamin C Vitamin E selenium and carotenoids. *Journal of the American Dietetic Association*, 100, 637–640
- Najla, S., Sanoubar, R., & Murshed, R. (2012). Morphological and biochemical changes in two parsley varieties upon water stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 18, 133-139.
- Ngo-Duy, C. C., Destailats, F., Keskitalo, M., Arul, J., & Angers, P. (2009). Triacylglycerols of Apiaceae seed oils: Composition and regiodistribution of fatty acids. *European journal of lipid science and technology*, 111, 164-169.

- Nielsen, S. E., Young, J. F., Daneshvar, B., Lauridsen, S. T., Knuthsen, P., Sandström, B., & Dragsted, L. O. (1999). Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 81, 447-455.
- Nour, V., Trandafir, I., Cosmulescu, S. (2017). Bioactive compounds, antioxidant activity and nutritional quality of different culinary aromatic herbs. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45, 179–184.
- Olmedo, R., Nepote, V., & Grosso, N. R. (2014). Antioxidant activity of fractions from oregano essential oils obtained by molecular distillation. *Food chemistry*, 156, 212-219.
- Pápay, Z. E., Kósa, A., Boldizsár, I., Ruskai, A., Balogh, E., Klebovich, I., & Antal, I. (2012). Pharmaceutical and formulation aspects of *Petroselinum crispum* extract. *Acta Pharmaceutica Hungarica*, 82, 3.
- Patel, D., Shukla, S., & Gupta, S. (2007). Apigenin and cancer chemoprevention: progress, potential and promise. *International journal of oncology*, 30(1), 233-245.
- Pavela, R., Maggi, F., Lupidi, G., Cianfaglione, K., Dauvergne, X., Bruno, M., & Benelli, G. (2017). Efficacy of sea fennel (*Crithmum maritimum* L., Apiaceae) essential oils against. *Industrial Crops and Products*, 109, 603-610.
- Pereira, C., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2015). A comparison of the nutritional contribution of thirty-nine aromatic plants used as condiments and/or herbal infusions. *Plant foods for human nutrition*, 70, 176-183.
- Pereira, C., Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2013). Use of UFLC-PDA for the analysis of organic acids in thirty-five species of food and medicinal plants. *Food Analytical Methods*, 6, 1337-1344.
- Petropoulos, S. A., Daferera, D., Akoumianakis, C. A., Passam, H. C., & Polissiou, M. G. (2004). The effect of sowing date and growth stage on the essential oil composition of three types of parsley (*Petroselinum crispum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1606-1610.
- Petropoulos, S. A., Daferera, D., Polissiou, M. G., & Passam, H. C. (2008). The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. *Scientia Horticulturae*, 115, 393-397.

- Petropoulos, S. A., Akoumianakis, C. A., & Passam, H. C. (2006). Evaluation of turnip-rooted parsley (*Petroselinum crispum* ssp. *tuberosum*) for root and foliage production under a warm, Mediterranean climate. *Scientia horticultrae*, *109*, 282-287.
- Petropoulos, S., Fernandes, Â., Barros, L., Ciric, A., Sokovic, M., Ferreira, I.C.F.R. (2017). The chemical composition, nutritional value and antimicrobial properties of *Abelmoschus esculentus* seeds. *Food Function*, *8*, 4733–4743.
- Ping, W. A. N. G., & Rong, Z. H. O. U. (2006). Determination of organic acids exuded from plant roots by high performance liquid chromatography. *Chinese Journal of Chromatography*, *24*, 239-243.
- Proz, M. D. L. Á. (2020). Compostos bioativos em salsa (*petroselinum crispum*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*) produzidos sob diferentes sistemas de cultivo. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná Marechal Cândido Rondon.
- Rached, W., Calhelha, R. C., Fernandes, Â., Carvalho, A. M., Bennaceur, M., Marouf, A., Barros, L., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Phytochemical characterization and bioactive properties of *Osyris quadripartita* Salzm. ex Decne. leaves from Algeria. *RSC Advances*, *6*, 72768–72776.
- Roberfroid, M. B., Coxam, V., & Delzenne, N. (2008). *Aliments fonctionnels* (2nd ed.). Paris: Lavoisier.
- Saleh, A. M., Selim, S., Al Jaouni, S., & AbdElgawad, H. (2018). CO<sub>2</sub> enrichment can enhance the nutritional and health benefits of parsley (*Petroselinum crispum* L.) and dill (*Anethum graveolens* L.). *Food chemistry*, *269*, 519-526.
- Salgueiro, L., Martins, A. P., & Correia, H. (2010). Raw materials: the importance of quality and safety. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, *25*, 253-271.
- Samuolienė, G., Brazaitytė, A., Viršilė, A., Jankauskienė, J., Sakalauskienė, S., & Duchovskis, P. (2016). Red light-dose or wavelength-dependent photoresponse of antioxidants in herb microgreens. *PloS one*, *11*, e0163405.
- Santamaria, P., Elia, A., Serio, F., & Todaro, E. (1999). A survey of nitrate and oxalate content in fresh vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *79*, 1882-1888.
- Sarmiento, A., Barros, L., Fernandes, Â., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Valorization of traditional foods: Nutritional and bioactive properties of Cicer

- arietinum L. and Lathyrus sativus L. pulses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 179–185.
- Sarwar, S., Ayyub, M. A., Rezgui, M., Nisar, S., & Jilani, M. I. (2016). Parsley: A review of habitat, phytochemistry, ethnopharmacology and biological activities. *International Journal of Chemical and Biochemical Science*, 9, 49-55.
- Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A., & Merah, O. (2017). The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial Crops and Products*, 109, 661-671.
- Sbai, H., Saad, I., Ghezal, N., Della Greca, M., & Haouala, R. (2016). Bioactive compounds isolated from *Petroselinum crispum* L. leaves using bioguided fractionation. *Industrial Crops and Products*, 89, 207-214.
- Shergill-Bonner, R. (2013). Micronutrients. *Paediatrics and Child Health*, 23, 331-336.
- Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of food composition and analysis*, 19, 531-537.
- Slimestad, R., Fossen, T., & Brede, C. (2020). Flavonoids and other phenolics in herbs commonly used in Norwegian commercial kitchens. *Food chemistry*, 309, 125678.
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*, 21, 1199-1218.
- Tsimogiannis, D., Oreopoulou, D. (2019). Classification of Phenolic Compounds in Plants in Polyphenols in Plants - Isolation, Purification and Extract Preparation. Academic Press. Chapter 16, 2<sup>nd</sup> ed. pp 263-284.
- Tucker, A. O., & DeBaggio, O. (2009). Encyclopedia of herbs. Timber Press. Portland, Oregon. Pp 393-394.
- Vongerichten, E., & Köhler, A. (1909). Über Petroselinsäure, eine neue Ölsäure. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 42, 1638-1639.
- Yousofi, A., Daneshmandi, S., Soleimani, N., Bagheri, K., & Karimi, M. H. (2012). Immunomodulatory effect of Parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil on immune cells: mitogen-activated splenocytes and peritoneal macrophages. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 34, 303-308.
- Zhao, X., Cai, P., Sun, C., & Pan, Y. (2018). Application of ionic liquids in separation and analysis of carbohydrates: State of the art and future trends. *Trends in Analytical Chemistry*, 111, 148-162.

Zhang, J., Wider, B., Shang, H., Li, X., & Ernst, E. (2012). Quality of herbal medicines: challenges and solutions. *Complementary therapies in medicine*, 20, 100-106.



## ANEXO 1 – Tabela suplementar de ácidos gordos

Tabela A1. Composição detalhada em ácidos gordos (%) das amostras de salsa estudadas (média±DP).

	Folhas lisas					Folhas encaracoladas		
	Festival 68	Astra	Gigante Di Italia	Fest	Rialto Bejo	Depuis 1743	Moss Curled 2	Mooskrause
C6:0	0,105±0,007	0,090±0,001	0,125±0,007	0,126±0,006	0,089±0,002	0,345±0,007	0,225±0,007	0,059±0,002
C8:0	0,049±0,002	0,030±0,001	0,058±0,003	0,050±0,001	0,049±0,002	0,057±0,004	0,060±0,001	0,029±0,001
C10:0	0,178±0,003	0,130±0,001	0,115±0,007	0,18±0,01	0,089±0,002	0,197±0,004	0,39±0,02	0,179±0,001
C12:0	0,085±0,007	0,110±0,001	0,075±0,007	0,136±0,006	0,090±0,001	0,120±0,001	0,178±0,003	0,090±0,001
C13:0	0,150±0,001	0,098±0,003	0,078±0,003	0,110±0,001	1,015±0,007	0,135±0,007	0,160±0,001	1,235±0,007
C14:0	0,97±0,06	1,11±0,01	0,765±0,007	1,37±0,04	0,895±0,007	2,33±0,06	2,4±0,2	1,085±0,007
C15:0	0,340±0,001	0,315±0,007	0,270±0,001	0,330±0,001	0,255±0,007	0,278±0,003	0,30±0,01	0,306±0,006
C16:0	22,7±0,5	20,12±0,02	21,5±0,8	21,9±0,2	20,90±0,04	21,8±0,2	21,9±0,8	21,11±0,01
C16:1	1,74±0,09	2,37±0,08	2,10±0,08	1,80±0,04	1,85±0,02	2,26±0,01	2,01±0,08	1,94±0,06
C17:0	0,329±0,001	0,725±0,007	0,55±0,04	0,495±0,007	0,345±0,003	0,685±0,007	0,525±0,007	0,236±0,006
C18:0	1,50±0,03	1,52±0,01	1,49±0,05	1,48±0,01	1,63±0,02	1,55±0,01	1,70±0,04	1,81±0,06
C18:1n9c	4,24±0,01	2,73±0,04	3,0±0,2	3,25±0,04	2,96±0,01	2,69±0,01	2,76±0,01	0,46±0,02
C18:2n6c	32,07±0,01	30,08±0,06	30,6±0,5	32,2±0,1	28,13±0,01	29,16±0,07	27,6±0,1	30,6±0,6
C18:3n3	28,6±0,2	33,2±0,2	31,96±0,07	28,9±0,1	36,18±0,06	31,69±0,01	31,8±0,1	31,3±0,3
C20:0	0,64±0,03	0,62±0,01	0,496±0,006	0,74±0,01	0,36±0,01	0,465±0,007	0,71±0,06	0,670±0,001
C20:1	0,79±0,06	0,180±0,001	0,659±0,002	0,87±0,04	0,525±0,007	0,185±0,007	0,405±0,007	0,484±0,008
C20:2	0,115±0,007	0,200±0,001	0,135±0,007	0,145±0,007	0,27±0,01	0,155±0,007	0,165±0,007	0,426±0,006
C21:0	0,31±0,01	0,395±0,007	0,267±0,005	0,280±0,001	0,221±0,001	0,350±0,014	0,313±0,004	0,206±0,006
C22:0	1,42±0,08	1,75±0,06	1,45±0,05	1,5±0,1	1,04±0,01	1,56±0,06	1,62±0,08	2,10±0,03
C23:0	0,805±0,007	0,69±0,02	0,78±0,03	1,03±0,05	0,726±0,006	0,685±0,007	0,60±0,04	1,14±0,01
C24:0	2,88±0,25	3,6±0,2	3,57±0,06	3,18±0,06	2,38±0,01	3,3±0,1	4,2±0,7	4,58±0,08

Tabela A1. Continuação

	Folhas nabo enraizado								
	Olomuńcka	Pólna	Linga	Halblange Berlinska	Osborne	Lenka	Sonata	Kaśka	Vistula
C6:0	0,125±0,007	0,150±0,014	0,040±0,001	0,135±0,007	0,085±0,007	0,125±0,007	0,068±0,004	0,156±0,006	0,069±0,002
C8:0	0,058±0,004	0,050±0,001	0,070±0,001	0,059±0,002	0,039±0,001	0,049±0,002	0,029±0,002	0,058±0,004	0,049±0,002
C10:0	0,389±0,002	0,428±0,004	0,240±0,001	0,394±0,008	0,315±0,007	0,512±0,002	0,24±0,02	0,25±0,01	0,289±0,002
C12:0	0,100±0,001	0,147±0,005	0,029±0,001	0,157±0,004	0,085±0,007	0,155±0,007	0,110±0,001	0,095±0,007	0,075±0,007
C13:0	0,298±0,004	0,398±0,004	0,205±0,007	0,34±0,03	0,225±0,007	0,33±0,04	0,215±0,007	0,205±0,007	0,245±0,007
C14:0	1,23±0,01	1,57±0,05	0,215±0,007	1,42±0,04	0,93±0,08	1,72±0,04	1,17±0,01	1,05±0,01	1,00±0,03
C15:0	0,320±0,001	0,345±0,007	0,625±0,007	0,29±0,02	0,288±0,004	0,336±0,006	0,294±0,008	0,280±0,001	0,285±0,007
C16:0	21,98±0,16	21,26±0,04	21,38±0,03	20,0±0,7	20,1±0,6	21,50±0,01	20,15±0,28	20,2±0,3	19,2±0,8
C16:1	2,20±0,01	1,80±0,01	0,340±0,001	1,85±0,08	1,99±0,06	1,65±0,01	1,96±0,04	2,07±0,05	1,73±0,05
C17:0	0,839±0,012	0,351±0,013	0,237±0,004	0,79±0,03	1,15±0,06	0,60±0,01	0,795±0,007	0,786±0,006	0,63±0,01
C18:0	1,40±0,01	1,32±0,01	1,21±0,02	1,42±0,02	1,11±0,05	1,26±0,01	1,35±0,04	1,42±0,01	1,22±0,01
C18:1n9c	2,49±0,06	2,69±0,09	5,86±0,03	4,04±0,04	2,495±0,007	2,57±0,08	2,16±0,02	2,71±0,02	2,48±0,03
C18:2n6c	32,1±0,1	32,3±0,2	34,42±0,06	30,1±0,3	30,4±0,3	32,27±0,07	29,5±0,2	31,4±0,2	30,44±0,06
C18:3n3	31,07±0,04	30,8±0,3	30,30±0,03	32,7±0,4	36,2±0,4	29,7±0,3	34,7±0,4	33,03±0,08	34,6±0,7
C20:0	0,44±0,03	0,395±0,007	0,46±0,03	0,449±0,002	0,295±0,007	0,559±0,001	0,510±0,001	0,505±0,007	0,55±0,04
C20:1	0,295±0,007	0,250±0,001	0,180±0,001	0,149±0,002	0,175±0,007	0,165±0,007	0,195±0,007	0,190±0,001	0,225±0,007
C20:2	0,154±0,006	0,175±0,007	0,245±0,007	0,255±0,007	0,300±0,015	0,450±0,001	0,294±0,008	0,355±0,007	0,378±0,003
C21:0	0,259±0,001	0,295±0,007	0,160±0,001	1,32±0,08	0,990±0,028	1,26±0,04	1,27±0,01	1,40±0,06	1,62±0,04
C22:0	1,08±0,02	1,23±0,06	1,29±0,01	0,09±0,01	0,095±0,007	0,150±0,001	0,105±0,007	0,125±0,007	0,053±0,004
C23:0	0,58±0,03	0,69±0,04	0,695±0,007	0,83±0,06	0,55±0,02	1,03±0,06	0,92±0,04	0,696±0,006	0,921±0,041
C24:0	2,60±0,08	3,43±0,06	1,82±0,01	3,30±0,01	2,24±0,01	3,66±0,06	3,99±0,08	3,04±0,06	4,06±0,09

Tabela A1. Continuação

	Folhas nabo enraizado							
	Konika	Hanacka	Halblange Eagle	Cukrowa	Alba	Arat	Root parsley (comum)	Berlinski Halblange Springer
C6:0	0,019±0,001	0,029±0,001	0,090±0,001	0,106±0,008	0,079±0,001	0,105±0,007	0,179±0,001	0,111±0,001
C8:0	0,039±0,002	0,049±0,002	0,019±0,001	0,029±0,001	0,029±0,001	0,039±0,001	0,089±0,002	0,048±0,003
C10:0	0,315±0,007	0,395±0,007	0,204±0,008	0,345±0,007	0,245±0,007	0,245±0,007	0,316±0,006	0,137±0,004
C12:0	0,019±0,001	0,019±0,001	0,129±0,001	0,127±0,005	0,121±0,001	0,089±0,002	0,031±0,001	0,039±0,001
C13:0	0,310±0,001	0,345±0,007	0,115±0,001	0,305±0,007	0,258±0,003	0,215±0,007	0,345±0,007	0,247±0,005
C14:0	0,128±0,004	0,145±0,007	1,255±0,007	1,32±0,01	1,21±0,01	1,23±0,01	0,190±0,001	0,163±0,004
C15:0	0,465±0,007	0,485±0,007	0,28±0,01	0,265±0,007	0,226±0,006	0,222±0,003	0,52±0,02	0,37±0,02
C16:0	21,22±0,01	21,64±0,07	19,12±0,01	20,24±0,01	19,20±0,02	20,03±0,01	22,58±0,18	22,58±0,03
C16:1	0,278±0,003	0,245±0,007	1,86±0,01	1,96±0,01	1,53±0,01	1,66±0,01	0,36±0,01	0,321±0,001
C17:0	0,477±0,005	0,385±0,007	1,19±0,01	0,649±0,002	1,23±0,01	0,701±0,001	0,47±0,02	0,346±0,006
C18:0	1,05±0,02	1,05±0,01	1,31±0,01	1,50±0,01	1,52±0,01	1,47±0,01	1,69±0,01	1,14±0,01
C18:1n9c	5,86±0,04	5,8±0,3	3,31±0,01	3,02±0,01	5,41±0,01	3,62±0,01	7,97±0,02	7,51±0,08
C18:2n6c	40,1±0,2	39,32±0,07	29,93±0,08	30,50±0,04	31,4±0,5	33,02±0,01	34,3±0,2	34,9±0,5
C18:3n3	26,5±0,4	26,42±0,08	33,6±0,1	32,3±0,1	30,6±0,4	30,67±0,02	26,41±0,04	28,5±0,4
C20:0	0,34±0,02	0,465±0,007	0,455±0,007	0,455±0,007	0,506±0,006	0,535±0,007	0,600±0,001	0,45±0,02
C20:1	0,110±0,001	0,115±0,007	0,385±0,007	0,375±0,007	0,247±0,005	0,345±0,007	0,158±0,003	0,111±0,001
C20:2	0,137±0,004	0,215±0,007	0,148±0,004	0,272±0,004	0,206±0,006	0,227±0,004	0,217±0,005	0,18±0,01
C21:0	0,257±0,004	0,235±0,007	0,282±0,002	0,415±0,007	0,426±0,006	0,368±0,004	0,217±0,005	0,158±0,003
C22:0	0,86±0,01	1,05±0,01	1,35±0,01	1,34±0,02	1,32±0,01	1,23±0,01	1,43±0,01	1,02±0,03
C23:0	0,478±0,004	0,425±0,007	1,04±0,01	0,975±0,007	0,815±0,007	0,969±0,002	0,526±0,008	0,348±0,004
C24:0	1,13±0,01	1,14±0,01	3,93±0,01	3,51±0,01	3,45±0,03	3,04±0,01	1,45±0,02	1,28±0,06

C6:0 – Ácido hexanóico; C8:0 - Ácido octanoico; C10:0 - Ácido decanóico; C12:0 - ácido láurico; Ácido C13:0 – ácido tridecanóico; C14:0 - ácido mirístico; C15:0 - ácido pentadecanóico; C16:0 - ácido palmítico; C16:1 - ácido palmitoleico; C17:0 – ácido heptadecanóico; C18:0 - ácido esteárico; C18:1n9c - ácido oleico; C18:2n6c - ácido linoléico; C18:3n3 - ácido alfa-linolénico; C20:0 - Ácido eicosanóico; C20:1 - Ácido eicosenóico; C20:2 - ácido eicosadienóico; C21:0 - Ácido heicosanóico; C22:0 - Ácido docosanóico ; C23:0 - ácido tricosanóico; C24:0 - ácido lignocérico.