



DIOGO MENDES DA SILVA LORDÊLLO

**DISPONIBILIDADE HÍDRICA NO
CRESCIMENTO, ACÚMULO E COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha
piperita* E ESTUDO COMPARATIVO DE
ATIVIDADES ANTIOXIDANTES EM ESPÉCIES
DE MENTAS**

LAVRAS – MG

2015

DIOGO MENDES DA SILVA LORDÊLLO

**DISPONIBILIDADE HÍDRICA NO CRESCIMENTO, ACÚMULO E
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* E
ESTUDO COMPARATIVO DE ATIVIDADES ANTIOXIDANTES EM
ESPÉCIES DE MENTAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

PhD. José Eduardo Brasil P. Pinto

Coorientadores

Dr. João Paulo Rodrigues D. Barbosa

Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci

LAVRAS – MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Lordêllo, Diogo Mendes da Silva.

Disponibilidade hídrica no crescimento, acúmulo e
composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* e estudo
comparativo de atividades antioxidantes em espécies de mentas /
Diogo Mendes da Silva Lordêllo. – Lavras : UFLA, 2015.
98 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.
Bibliografia.

1. Mentha. 2. Déficit hídrico. 3. Compostos fenólicos. 4.
Atividade antioxidante. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

DIOGO MENDES DA SILVA LORDÊLLO

**DISPONIBILIDADE HÍDRICA NO CRESCIMENTO, ACÚMULO E
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* E
ESTUDO COMPARATIVO DE ATIVIDADES ANTIOXIDANTES EM
ESPÉCIES DE MENTAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 26 de junho de 2015.

Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci UFLA

PhD. Smail Aazza UALG

Dr. Geraldo Célio Brandão UFOP

PhD. José Eduardo Brasil P. Pinto
Orientador

Dr. João Paulo Rodrigues D. Barbosa
Coorientador

LAVRAS – MG

2015

A minha esposa e eterna parceira Emmanuelle.

A minha amada filha Sophia.

Aos meus pais Roberto e Criselda.

Aos pais que ganhei durante a vida, Antônio e Mércya,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar forças, por guiar o universo com sabedoria e nos dar um destino cheio de aprendizados os quais nos fazem crescer e nos tornarmos cada dia mais fortes e sábios.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa concedida.

Agradeço a minha esposa Emmanuelle por sempre acreditar em mim, ter sido além de companheira uma base para que eu pudesse avançar em meus estudos.

Aos meus pais, Roberto e Criselda, pela educação dada, pelo amor e criação, por sempre incentivar e acreditar em meus estudos.

Aos meus sogros, Mércya e Antônio, por acreditarem em mim, confiarem e me incentivarem ao máximo.

Agradeço ao professor José Eduardo, além de grande orientador e excelente pessoa, um pai para com seus orientados sempre nos protegendo, guiando e, sempre que necessário, corrigindo nossos erros com sabedoria.

À professora Suzan Kelly Bertolucci, ao pesquisador e grande mestre Smail Aazza, ao professor João Paulo Barbosa, pelo auxílio como coorientadores, vasto conhecimento cedido, e pela boa vontade e paciência para com este mestrando.

Aos laboratoristas Evaldo, Luís, Anete. Ao casal de doutores e amigos Fernanda e Ivan. Por participarem desse meu crescimento, estarem sempre solícitos a ajudar e doarem um pouco de seu conhecimento em prol do próximo.

Aos anjos da guarda que conheci nesta caminhada, Dico e Paulo, só tenho a agradecer pela ajuda de vocês, amigos que levarei comigo.

Agradeço também aos amigos do núcleo de estudos em plantas medicinais (NEMAC).

Aos amigos das Repúblicas CABARÉ e RISKAFKA, por me proporcionarem momentos inesquecíveis e se tornarem minha família em Lavras.

RESUMO GERAL

No primeiro artigo, objetivou-se avaliar o crescimento vegetativo de *M. piperita* cultivada sob diferentes disponibilidades hídricas, bem como sua influência no acúmulo composição química e atividade antioxidante *in vitro* do óleo essencial, foram quatro tratamentos: (T1) 100-85% da capacidade de campo (CC); (T2) 80-65% da CC; (T3) 60-45% da CC; (T4) 40-25% da CC, com cinco blocos. As plantas foram mantidas na CC por 30 dias e sob tratamento por 40 dias. Avaliou-se o crescimento vegetativo, além do óleo essencial das folhas o qual foi extraído por hidrodestilação, analisado por CG-FID e CG-EM e quantificado seu potencial antioxidante. Ao nível de 40% da CC houve redução significativa do aporte de MSF em 31% e MSC em 15,6%, alterando também a composição química do óleo essencial. Ao nível de 40% de umidade ocorreu elevação da capacidade antioxidante total e aos 80% elevação do poder quelante dos óleos. No segundo artigo, objetivou-se quantificar os compostos fenólicos totais e comparar o potencial antioxidante *in vitro* de extratos aquosos e hidroalcoólicos de *M. piperita*, *M. villosa* e *M. rotundifolia*. Os extratos aquosos foram preparados sob-refluxo durante 60 minutos na concentração de 5%. Os extratos hidroalcoólicos foram preparados por sonicação com etanol 70% por 30min na concentração de 5%. As quantificações de fenólicos totais, flavonoides e dihidroflavonoides foram realizadas por espectrofotometria. A atividade antioxidante foi avaliada por meio dos métodos de atividade antioxidante total pela redução do molibdato de amônio, poder quelante, poder redutor, atividade de eliminação de radicais livres (ABTS e DPPH). Independente da espécie de *Mentha* e do líquido extrator, os teores de compostos fenólicos, flavonoides e dihidroflavonoides foram maiores nas folhas que nos caules. Correlação positiva entre os teores de compostos fenólicos e as respostas de atividade antioxidantes *in vitro* foram mais acentuadas nos extratos hidroalcoólicos das folhas. As maiores atividades antioxidantes foram registradas em extratos hidroalcoólicos de folhas das mentas.

Palavras-chave: *Mentha*. Défice hídrico. Compostos fenólicos. Atividade antioxidante.

GENERAL ABSTRACT

In the first article aimed to evaluate the vegetative growth of *M. piperita* grown under different water availability, as well as its influence on the chemical composition accumulation and antioxidant activity in vitro of the essential oil were 4 treatments: (T1) 100-85% capacity field (CC); (T2) 80-65% DC; (T3) 60-45% of C; (T4) 40-25% of CC with 5 blocks. The plants were maintained for 30 days in DC and under treatment for 40 days. Evaluated the vegetative growth beyond the essential oil from the leaves which was extracted by hydrodistillation, analyzed by GC-FID and GC-MS and quantified its antioxidant potential. At the 40% level of DC there was a significant reduction in the MSF input MSC 31% and 15.6%, also changing the chemical composition of the essential oil. The level of 40% moisture was elevated total antioxidant capacity and 80% increase of the chelating power of the oils. In the second article aimed to quantify the total phenolics and compare the antioxidant potential in vitro aqueous and hydroalcoholic of *M. piperita*, *M. villosa* and *M. rotundifolia*. The aqueous extracts were prepared under reflux for 60 minutes at a concentration of 5%. The hydroalcoholic extracts were prepared by sonication in 70% ethanol for 30 min at 5% concentration. The quantification of total phenolics, flavonoids and dihydroflavonoides were performed by spectrophotometry. The antioxidant activity was evaluated by the total antioxidant activity methods by reducing ammonium molybdate, chelating power, reducing power, scavenging activity of free radicals (ABTS and DPPH). Regardless of the kind of *Mentha* and liquid extractor, the content of phenolics, flavonoids and dihydroflavonoides were higher in the leaves than in stems. Positive correlation between levels of phenolic compounds and antioxidant responses in vitro activity were more pronounced in hydroalcoholic extracts of the leaves. The greatest antioxidant activities were recorded in hydroalcoholic extracts of leaves of mint.

Key words: *Mentha*. Drought. Fenólicos compounds. Antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

- Figura 1 Biossíntese dos monoterpênos majoritários constituintes do gênero *Mentha*.....17

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1

- Figura 1 Partição de matéria seca da parte aérea (PA) e raiz de *M. piperita* cultivadas sob diferentes faixas de umidade do solo47
- Figura 2 (a) Rendimento de óleo essencial de *Mentha piperita* L. sob diferentes níveis de umidade do solo. (b) Teor de óleo essencial de *Mentha piperita* L. sob diferentes níveis de umidade do solo48

ARTIGO 2

- Figura 1 Teores de compostos fenólicos nos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas e caules de *M. piperita* (MPF e MPC), *M. rotundifolia* (MRF e MRC) e *M. villosa* (MVF e MVC), respectivamente. **Fenólicos totais:** expressos em mg equivalentes a ácido gálico/g de material vegetal seco (mg EAG/g). **Flavonoides:** expressos em mg equivalentes à quercetina/g de material vegetal seco (mg EQ/g). **Dihidroflavonoides:** expressos em mg equivalentes a naringenina/g de material vegetal seco (mg EN/g). Os dados representam a média \pm desvio padrão de determinações em triplicata.....76

Figura 2 Atividades antioxidantes dos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas e caules de *M. piperita* (MPF e MPC), *M. rotundifolia* (MRF e MRC) e *M. villosa* (MVF e MVC). (a) Atividade antioxidante total em mg equivalentes ao ácido ascórbico/ g de material vegetal (mg EAA/g), (b) Poder quelante: padrão EDTA $0,06 \pm 0,01$, (c) Captura de radicais livres de DPPH (d) Captura de radicais livres de ABTS. (c,d) IC_{50} do BHT foi de $0,18 \pm 0,01$ mg/mL. Os dados representam a média \pm desvio padrão de determinações em triplicata79

Figura 3 Correlação entre a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos dos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas e caules de *M. piperita*, *M. rotundifolia* e *M. villosa*. (a, e, i) Atividade antioxidante total, expresso em miligrama equivalente em ácido ascórbico por g de material vegetal (mg EAA/g) e teor de fenóis totais (mg EAG/g). (b, f, j) Poder quelante expresso em IC_{50} (mg/mL) e teor de fenóis totais (mg EAG/g). (c, g, k) Eliminação de radicais livres DPPH expressos em IC_{50} (mg/mL) e teor de fenóis totais (mg EAG/g). (d, h, l) Eliminação de radicais ABTS, expressos em IC_{50} (mg/mL) e teor de fenóis totais (mg EAG/g).....82

Figura 4 Poder redutor dos extratos (a) aquosos e (b) hidroalcoólicos das Folhas de *M. piperitha* (■); *M. villosa* (◆); *M. rotundifolia* (●) e caules de *M. piperitha* (⊞); *M. villosa* (■); *M. rotundifolia* (⊕). Padrão ácido ascórbico (- - + - -).....90

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

- Tabela 1 Produção de matéria vegetal de *Mentha piperita* submetida a diferentes níveis de umidade do solo.....46
- Tabela 2 Efeito da disponibilidade hídrica na composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* L.....52
- Tabela 3 Atividade antioxidante do óleo essencial de *M. piperita* L. cultivada sob diferentes níveis de disponibilidade hídrica.....54

ARTIGO 2

- Tabela 1 Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre os compostos quantificados e a capacidade antioxidante total (teste do molibdato), poder quelante e atividade de eliminação de radicais DPPH e ABTS84

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO..... 14
2	REFERENCIAL TEÓRICO 16
2.1	Gênero <i>Mentha</i> 16
2.1.1	<i>Mentha piperita</i> L. 18
2.1.2	<i>Mentha villosa</i> Huds 19
2.1.3	<i>Mentha rotundifolia</i> 19
3	METABOLISMO SECUNDÁRIO 21
4	FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS 22
5	COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E SEUS EFEITOS 24
6	OBJETIVO GERAL 26
	REFERENCIAS 27
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS 34
	ARTIGO 1 Crescimento de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada sob diferentes disponibilidades hídricas e sua influência na composição química e capacidade antioxidante do óleo essencial .. 34
1	INTRODUÇÃO..... 36
2	MATERIAIS E MÉTODOS 39
2.1	Obtenção do material vegetal e condições de crescimento 39
2.2	Extração, teor, rendimento e análises químicas do óleo essencial .. 40
2.3	Reagentes 42
2.4	Capacidade antioxidante total pelo método de redução do molibdato de amônio 42
2.5	Determinação do poder quelante dos óleos essenciais 43
2.6	Atividade de eliminação de radicais livres (DPPH) 43
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO 45
3.1	Crescimento vegetativo 45
3.2	Rendimento, teor e análise química do óleo essencial 48
3.3	Atividade antioxidante 53
4	CONCLUSÕES 56
	REFERÊNCIAS 58
	ARTIGO 2 Atividade antioxidante e compostos fenólicos totais de extratos aquosos e hidroalcoólicos de três espécies do gênero <i>Mentha</i> 64
1	INTRODUÇÃO 66
2	METODOLOGIA 68
2.1	Reagentes e Espectrofotômetro 68
2.2	Material vegetal 68

2.3	Preparo dos extratos	69
2.4	Determinação dos fenóis totais	69
2.5	Quantificação de flavonoides (flavonas e flavonóis totais)	70
2.6	Quantificação dos dihidroflavonoides totais	70
2.7	Capacidade antioxidante total	71
2.8	Determinação do poder quelante	72
2.9	Atividade de eliminação de radicais livres (DPPH)	72
2.10	Determinação do poder redutor	73
2.11	Determinação da atividade de eliminação de radicais livres (ABTS)	74
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.1	Teores de Compostos Fenólicos	75
3.2	Atividades antioxidantes	78
4	CONCLUSÃO	91
	REFERÊNCIAS.....	93

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Planta medicinal é uma nomenclatura atribuída às espécies vegetais utilizadas com propósitos terapêuticos, sejam elas cultivadas ou não, podem ainda ser consideradas como plantas medicinais espécies as quais apresentem uma história de uso tradicional como agente terapêutico (BRASIL, 2014; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2003).

As plantas medicinais produzem ampla diversidade de compostos orgânicos que não têm função direta no seu crescimento e desenvolvimento. Essas substâncias são conhecidas como produtos secundários ou metabólitos secundários, que têm função ligada à ecologia da planta, isto é, ao relacionamento da planta com o meio ambiente (TAIZ; ZEIGER, 2013). Essas substâncias são produzidas pela resposta dos vegetais a estímulos ambientais bastante variáveis, de natureza física, química ou biológica. Fatores tais como fertilidade e tipo do solo, umidade, radiação solar, temperatura dentre outros, podem influenciar e alterar a composição química dos vegetais (BARREIRO; MANSUR, 2001).

O déficit hídrico é caracterizado como um dos mais importantes fatores que afetam o crescimento e o metabolismo das plantas (XU; ZHOU; SHIMIZU, 2010). Nos últimos anos, houve um aumento no interesse em compreender o modo com que as plantas adaptam-se a ambientes adversos. Estas adaptações podem envolver os metabolismos primário e secundário das plantas, alterando assim o crescimento e a concentração dos metabólitos secundários como resposta a fatores ambientais (DEY; HARBORNE, 2000).

A baixa disponibilidade de água é muitas vezes associada ao aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS), tais como o ânion

superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (HO) e oxigênio singlete (1O_2). Em plantas, as EROS podem ser produzidas em diferentes compartimentos celulares incluindo cloroplastos, mitocôndrias, membranas plasmáticas, peroxissomos, parede celular e apoplastos (SHAO et al., 2008; SMIRNOFF,1993). São consideradas subprodutos inevitáveis do metabolismo aeróbico sendo continuamente produzidos e removidos das células por mecanismos antioxidativos enzimáticos e não enzimáticos (MITTLER, 2002; ZHU; LIANG; HAN, 2009). Plantas submetidas a estresse ambiental evoluem um complexo e eficiente sistema antioxidante capaz de neutralizar os efeitos prejudiciais das EROS (ZHU; LIANG; HAN, 2009).

Um antioxidante é qualquer substância capaz de retardar ou impedir danos devidos à oxidação estando presente em pequenas concentrações, quando em comparação com o agente oxidante (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007).

O presente trabalho teve dois objetivos. No primeiro, objetivou-se avaliar o crescimento vegetativo de *M. piperita* cultivada sob diferentes disponibilidades hídricas, bem como sua influência no acúmulo composição química e atividade antioxidante *in vitro* do óleo essencial. No segundo, objetivou-se quantificar os compostos fenólicos totais e comparar o potencial antioxidante *in vitro* de extratos aquosos e hidroalcoólicos de *M. piperita*, *M. villosa* e *M. rotundifolia*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Gênero *Mentha*

Lamiaceae é uma importante família botânica com cerca de 230 gêneros, alguns dos quais têm sido usados há séculos na medicina tradicional. Um dos gêneros mais importantes da família *Lamiaceae*, o *Mentha*, abrange espécies distribuídas em todo o mundo, com especial abundância em regiões temperadas da Eurásia, Austrália e África do Sul (DORMAN et al., 2003; KRZYZANOWSKA et al., 2011). As plantas desse gênero são encontradas em ambientes diferentes, embora preferencialmente cresçam em locais úmidos ou encharcados. As espécies de *Mentha* são, principalmente, de crescimento perene atingindo de 10 - 120cm de altura, com caules eretos e ramificados. Apresentam flores de branco a roxas, frutos com pequeno número de sementes (AFLATUNI et al., 2005; BRICKELL; TREVOR, 2002) e tem folhas geralmente opostas aos pares com cores diversas.

As espécies de *Mentha* têm como principal componente ativo os óleos essenciais, que são relatados como os compostos que lhes conferem as suas propriedades terapêuticas (KUMAR et al., 2011). Diferentes espécies de *Mentha* mostram alto polimorfismo na morfologia, e podem, por esse motivo, variar no seu teor e composição de óleo essencial (CHAUHAN et al., 2009). Vários autores descrevem em estudos a variação na composição do óleo essencial de *Mentha* e os diversos constituintes químicos encontrados, a exemplo da *M. longifolia* (L.) Huds. apresentando carvona (55%) e limoneno (20%) como componentes principais, enquanto outro tem cultivar óxido piperitenona (33%), 1,8-cineol (24%) e *trans*-piperitona (17%) (KOLIOPOULOS et al., 2010). Mentol (41%) e mentona (24%) em *M. piperita* L. emend. Huds. (SAMARASEKERA; WEERASINGHE; HEMALAL, 2008). No óleo essencial

de *M. pulegium*L. foi reportada a presença de *iso*-Mentona, isopulegona, α -pineno (AZIZ; ABBASS, 2010) e ciclohexanona, 8-hidroxi- δ -4(5)-p-methen-3-one, 3-octanol,d-limoneno (RIM; JEE, 2006). A Figura 1 demonstra a rota biossintética dos monoterpenos majoritários dos óleos essenciais de espécies de *Mentha*.

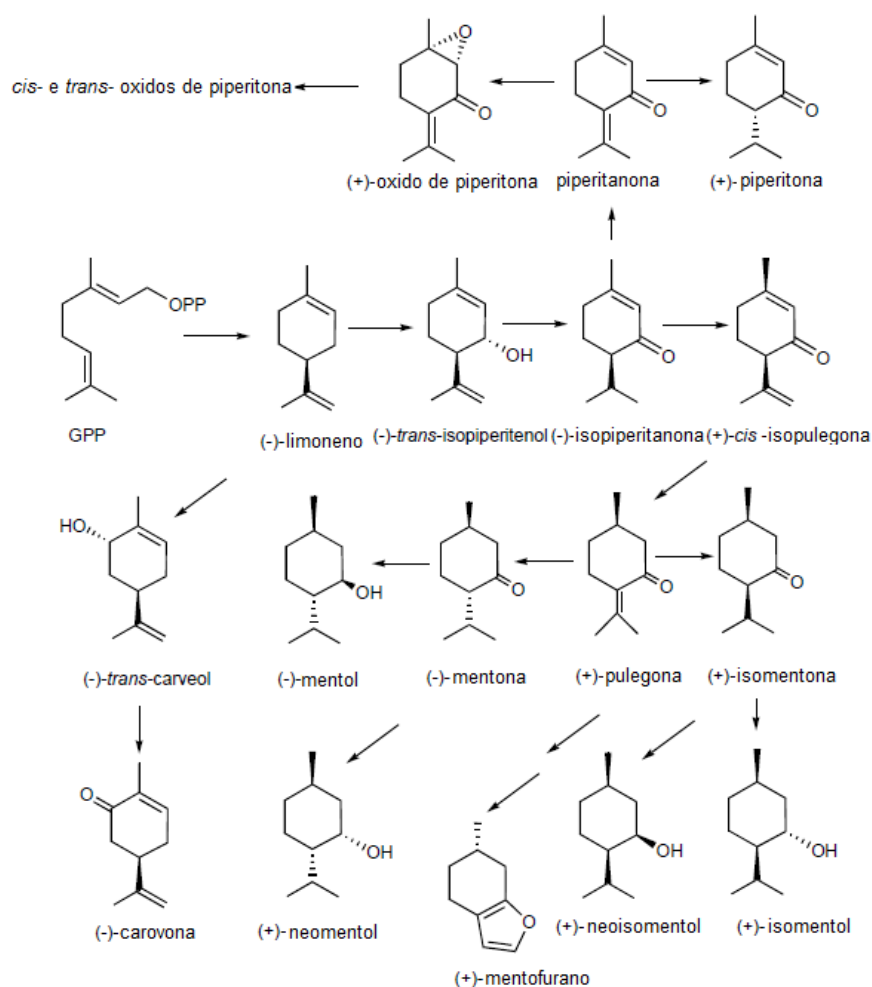


Figura 1 Biossintese dos monoterpenos majoritários constituintes do gênero *Mentha*

Fonte: (MIMICA-DUKIC; BOZIN, 2008).

2.1.1 *Mentha piperita* L.

As plantas de *Mentha x piperita* são perenes de crescimento rápido e fácil, possuem ramos quadriculares de coloração verde-escura, os roxos purpúreas, semieretos ou ramificando-se por mais de 50cm. Possuem folhas pequenas e opostas, elíptico-acuminadas, denteadas, pubescentes e muito aromáticas (LORENZI; MATOS, 2008). *Mentha x piperita* é um híbrido estéril de *Mentha x spicata* e *Mentha x aquatica* da família Lamiaceae, primeiramente cultivadas na bacia do Mediterrâneo e produzidas comercialmente na Inglaterra no final do século XVII (LAWRENCE, 2006).

A hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) está entre os mais populares ingredientes de chás. Vários efeitos benéficos têm sido atribuídos à utilização de hortelã-pimenta. A lista de ações fisiológicas baseadas em modelos *in vitro* e em animais e estudos em humanos incluem ações antioxidante, antitumoral, antimicrobiana, antialérgico e imunomoduladores além de benefícios para o trato digestivo. (LV et al., 2012; MCKAY; BLUMBERG, 2006). A espécie também é fonte de um dos mais populares óleos essenciais, com diversas aplicações nas indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica. Os mais importantes constituintes do óleo de hortelã-pimenta são: mentol, mentona, mentofurano, acetato de mentila e pulegona (AFLATUNI, 2005).

Há relatos na literatura que afirmam que a infusão de hortelã-pimenta pode conter apenas 21% do óleo essencial original da planta, enquanto que 75% do teor inicial de polifenóis são extraídos (DUBAND et al., 1992). Por esta razão, a atenção deve ser focada em compostos polares, tais como compostos fenólicos que são mais estáveis durante a ebulição e armazenamento (MIMICA-DUKIC; BOZIN, 2008).

2.1.2 *Mentha villosa* Huds

Mentha villosa Huds. é uma planta aromática que se caracteriza de um híbrido de *M. spicata* L. e *M. suaveolens*, comumente utilizada na medicina popular brasileira (LAHLOU et al., 2001). Popularmente conhecida como hortelã-comum, hortelã de tempero, hortelã-rasteira ou mentrasto (RADÜNZ, 2004). Tem sido relatado o uso dessa espécie contra amebíases, giardíases, tricomoníases urogenitais e esquistossomose, dentre outras atividades farmacológicas (LAHLOU et al., 2001; MONTE; OLIVEIRA, 2001; SOUSA et al., 1997). As folhas são usadas para a preparação de infusões eficazes no tratamento da cólica menstrual e diarreia, problemas estomacais e estados de ansiedade (TELES et al., 2013).

O óleo essencial de *Mentha villosa* é composto, em sua maior parte, por monoterpenos em até 90%. Os compostos mais encontrados são: α -pineno, β -sabineno, β -pineno, β -myrceno, limoneno, eucaliptol, borneol, rotundifolona e óxido de piperitona, este dois últimos sendo descritos como componentes majoritários dos óleos (LIMA et al., 2014; TELES et al., 2013). O óxido de piperitona encontrado nesta espécie foi relacionado às atividades antinociceptiva (SOUSA et al., 2009), cardiovasculares (GUEDES et al., 2004; LALHOU et al., 2001), analgésicas e relaxantes (ALMEIDA et al., 1996; SOUSA et al., 1997).

2.1.3 *Mentha rotundifolia*

Mentha rotundifolia é um híbrido entre *Mentha longifolia* e *Mentha suaveolens* Ehrh., cujo óleo essencial tem sido objeto de vários estudos (LORENZO et al., 2002).

Segundo Derwich et al. (2009), *Mentha rotundifolia* possui como compostos principais em seu óleo essencial o mentol em alta concentração, além

de mentona, acetato de mentila, mentofurano, óxido de piperitona, acetato de linalil, neomentol, piperitona, isomentona, 1,8-cineol, linalol, limoneno, geraniol, mirceno, acetato de geranil e hidrato de *trans*-sabineno.

Muitos quimiotipos são relatados. Um deles é particularmente rico em óxido de piperitona, um monoterpene oxigenado potencialmente responsável por efeitos cardiovasculares, agentes antibacterianos e antifúngicos, repelentes e retardadores da reprodução do vetor da malária (*Anopheles stephensi*) (DAMIEN et al., 2003; TRIPATHI et al., 2010).

De acordo com Bremnes (2002), a *M. rotundifolia* tem sido usada por seus sabores na culinária, na medicina popular como antisséptico e como agente antimicrobiano.

3 METABOLISMO SECUNDÁRIO

As plantas produzem ampla diversidade de compostos orgânicos que não têm função direta no seu crescimento e desenvolvimento. Essas substâncias são conhecidas como produtos secundários ou metabólitos secundários, que têm função ligada à ecologia da planta, isto é, ao relacionamento da planta com o meio ambiente (KAYS, 1991). De acordo com Taiz e Zeiger (2013), os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos principais: terpenoides, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Essas substâncias são produzidas pela resposta dos vegetais a estímulos ambientais bastante variáveis, de natureza física, química ou biológica. Fatores tais como fertilidade e tipo do solo, umidade, radiação solar, vento, temperatura e poluição atmosférica, dentre outros, podem influenciar e alterar a composição química dos vegetais (BARREIRO; MANSUR, 2001).

A composição quantitativa e qualitativa dos metabólitos secundários das plantas é alterada acentuadamente durante as fases de crescimento. Sua produção varia de acordo com a idade das plantas, o estado reprodutivo, efeito das estações ou horas do dia e com as condições de cultivo (CASTRO et al., 2010). Informações sobre o efeito de condições ambientais no metabolismo secundário das plantas são derivadas principalmente de esforços da pesquisa para maximizar a produção de constituintes ativos de espécies medicinais e aromáticas (DEY; HARBONE, 2000).

4 FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A produção e variabilidade de metabólitos secundários em plantas podem ser demonstrados sob diferentes condições de luz, temperatura, níveis de nutrição e umidade do solo (LIMA et al., 2003). Os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por estas principais condições ambientais (KUTCHAN, 2001).

A época em que uma planta medicinal é coletada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano (GOBBO-NETO; LOPES, 2010). Variações sazonais no conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários, como óleos essenciais (SCHWOB et al., 2004), ácidos fenólicos (ZIDORN; STUPPNER, 2001) e flavonoides (BROOKS; FEENY, 2004) são relatados.

A água é um dos fatores ambientais determinantes da diversidade produtiva dos vegetais. A sua importância para as plantas reside no fato de que todas as atividades metabólicas das células são afetadas direta ou indiretamente pelo nível de hidratação (FERREIRA, 1992). Segundo alguns autores a deficiência hídrica promove um acúmulo maior de metabólitos secundários na maior parte das espécies estudadas (FARRANT, 2000; OLIVER et al., 2001). Abreu e Mazzafera (2005) estudaram o cultivo de *Hypericum brasiliense* sob déficit hídrico e demonstraram que não só a concentração, mas o conteúdo total de compostos fenólicos foi muito superior nas plantas cultivadas sob menores disponibilidades de água.

O aumento nos teores de terpenos com redução dos níveis de umidade é evidenciado nos trabalhos de Nowak et al. (2010), Manukyan (2011) Selmar e

Kleinwachter (2013), Meira (2013). Ramakrishna e Ravishankar (2011) relataram que as concentrações dos vários produtos naturais secundários são fortemente dependentes das condições de cultivo e das vias metabólicas responsáveis pela produção e acumulação dos mesmos. A resposta ao estresse é induzida quando este chega a níveis celulares, os metabólitos secundários estão ligados à proteção de funções vitais em resposta ao estresse biótico e abiótico.

Compostos secundários como as quinonas, polióis, flavonoides, fenóis e carotenoides estão envolvidos nas respostas antioxidantes durante a deficiência hídrica. Um dos principais mecanismos moleculares de dano às células sensíveis à deficiência hídrica é o ataque de radicais livres a fosfolipídios, DNA e proteínas (HOEKSTRA; GOLOVINA; BUITINK, 2001; OLIVER et al., 2001).

5 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E SEUS EFEITOS

De ocorrência natural, os compostos fenólicos são uma classe de compostos secundários de plantas com diversos efeitos fisiológicos os quais promovem muitos benefícios para a saúde. Na dieta humana, eles estão mais concentrados em frutas, legumes, vinhos, chás, etc. Diversos chás são uma boa fonte de polifenóis e continuam a ser uma das maneiras mais comuns para adicionar os fenólicos à dieta regular (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2010). Um antioxidante é qualquer substância capaz de retardar ou impedir danos devidos à oxidação, estando presente em pequenas concentrações, quando em comparação com o agente oxidante (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007).

Neves et al. (2009) afirmaram que a propriedade de doador de elétrons que os compostos antioxidantes apresentam, permite a modulação do processo oxidativo no organismo, pois proporcionam um ambiente celular redutor, de forma a inibir o efeito dos radicais livres, impedindo o aparecimento de danos celulares.

Existem várias classes de compostos com capacidade em sequestrar radicais livres, dentre eles encontram-se os compostos fenólicos e os flavonoides. Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, mais de 8.000 compostos fenólicos já foram detectados em plantas, esses compostos agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios (BRAND-WILLIAMS, 1995).

Em espécies de *Mentha* os compostos fenólicos são associados a diversos efeitos farmacológicos (PEREIRA; CARDOSO, 2013). Estes efeitos incluem a capacidade antioxidante, que foi descrito para *M. piperita*, *M.*

dalmatica e *M. spicata* (DORMAN et al., 2003; LOPEZ et al., 2007), a capacidade antitumoral, que foi relatado para *M. spicata* e *M. piperita* L. (ARUMUGAN; RAMAMURTHY; RAMESH, 2010; YI; WETZSTEIN, 2011), a ação neuroprotetora relatado para *M. piperita* e *M. aquática* (LOPEZ et al., 2010; OLSEN et al., 2008) e as atividades anti-inflamatórias para *M. aquatica* (CONFORTI et al., 2008).

6 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve dois objetivos. No primeiro, objetivou-se avaliar o crescimento vegetativo de *M. piperita* cultivada sob diferentes disponibilidades hídricas, bem como sua influência no acúmulo de composição química e atividade antioxidante *in vitro* do óleo essencial. No segundo, objetivou-se quantificar os compostos fenólicos totais e comparar o potencial antioxidante *in vitro* de extratos aquosos e hidroalcoólicos de *M. piperita*, *M. villosa* e *M. rotundifolia*.

REFERENCIAS

- ABREU, I. N. de; MAZZAFERA, P. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. **Plant Physiology Biochemistry**, New Delhi, v. 43, n. 3, p. 241-248, Dec. 2005.
- AFLATUNI, A. et al. Variation in the amount of yield and in the extract composition between conventionally produced and micropropagated peppermint and spearmint. **Journal of Essential oil Research**, Carol Stream, v. 17, n. 1, p. 66-70, June 2005.
- ALMEIDA, R. N.; HIRUMA, C. A.; BARBOSA-FILHO, J. M. Analgesic effect of rotundifolone in rodents. **Fitoterapia**, Milano, v. 67, n. 4, p. 334–338, May 1996.
- ARUMUGAM, P.; RAMAMURTHY, P.; RAMESH, A. Antioxidant and cytotoxic activities of lipophilic and hydrophilic fractions of mentha spicata L. (Lamiaceae). **International Journal of Food Properties**, New York, v. 13, n. 1, p. 23-31, May 2010.
- AZIZ, E. E.; ABBASS, M. H. Chemical composition and efficiency of five essential oils against *Callosobruchus maculatus* (F.) on *Vigna radiata* seeds. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, Jordan, v. 8, n. 5, p. 411–419, May 2010.
- BARREIRO, E. J.; MANSUR, C. A. **Química medicinal**: as bases moleculares da ação dos fármacos. Porto Alegre: ArtMed, 2001. 608 p.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25–30, June 1995.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre os requisitos mínimos para o registro e renovação de registro de medicamentos fitoterápicos e produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, DF, 14 maio 2014. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a9e43d0044140f579b5affb9cd167b7c/rdc0026_13_05_2014.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 13 maio 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. 93 p.

BREMNES, L. **Herbs. eyewitness-handbooks**. New York: DK Publishing, 2002. 304 p.

BRICKELL, C.; TREVOR, C. **The American Horticultural Society: encyclopedia of plants & flowers**. New York: DK, 2002. 605 p.

BROOKS, J. S.; FEENY, P. Seasonal variation in *Daucus carota* leaf-surface and leaf-tissue chemical profiles. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 32, n. 9, p. 769-782, Sept. 2004.

CASTRO, H. G. et al. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 2, p. 308-314, June 2010.

CHAUHAN, R. S. et al. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM(J)26] from North-West Himalayan region, India. **Industrial Crops and Products**, London, v. 29, n. 2, p. 654-656, Mar. 2009.

CONFORTI, F. et al. In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 116, n. 1, p. 144-151, Apr. 2008.

DAMIEN, D. H. J. et al. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from mentha species, hybrids, varieties and cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 3, p. 4563-4569, Sept. 2003.

DERWICH, E. et al. GC-MS Analysis of the leaf essential oil of *Mentha rotundifolia*, a traditional herbal medicine in Morocco. **Chemical Bulletin of "Politehnica" University of Timisoara**, Romania, v. 54, n. 68, p. 85-88, Feb. 2009.

DEY, P. M.; HARBONE, J. B. **Plant biochemistry**. London: Academy Press, 2000. 544 p.

DORMAN, H. J. D. et al. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 16, p. 4563-4569, Sept. 2003.

DUBAND, F. et al. Composition aromatique et polyphénolique de l'infusé de menthe, *Mentha x Piperita* L. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, Paris, v. 50, n. 3, p. 146-155, Mar. 1992.

FARRANT, J. M. A comparison of mechanism of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 151, n. 1, p. 29-39, Nov. 2000.

FERREIRA, L. G. R. **Fisiologia vegetal**: relações hídricas. Fortaleza: Editora da UFC, 1992. 138 p.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 2, p. 374-381, out. 2010.

GUEDES, D. et al. Endothelium-dependent hypotensive and vasorelaxant effects on the essential oil from aerial parts of *Mentha x villosa* in rats. **Phytomedicine**, Jena, v. 1, n. 6, p. 490-497, Sept. 2004.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, n. 9, p. 431-438, Sept. 2001.

KAYS, S. S. J. **Postharvest physiology of perishable plants products**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 532 p.

KOLIOPOULOS, G. et al. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. **Parasitology Research**, Berlin, v. 107, n. 2, p. 327-335, July 2010.

KRZYZANOWSKA, J. et al. Determination of polyphenols in *Mentha longifolia* and *M. piperita* field-grown and in vitro plant samples Using UPLC-TQ-MS. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 94, n. 1, p. 43-50, Mar. 2011.

KUMAR, P. et al. Insecticidal properties of *Mentha* species: a review. **Industrial Crops and Products**, London, v. 34, n. 1, p.802-817, July 2011.

KUTCHAN, T. M. Ecological arsenal and developmental dispatcher: the paradigm of secondary metabolism. **Plant Physiology**, Washington, v. 125, n. 1, p.58-60, Jan. 2001.

LAHLOU, S. et al. Cardiovascular effects of the essential oil of *Mentha × villosa* and its main constituent, piperitenone oxide, in normotensive anaesthetised rats: role of the autonomic nervous system. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 67, n. 7, p. 638–643, Oct. 2001.

LAWRENCE, B. M. **Mint: the genus mentha**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 598 p.

LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 10, n. 2, p. 71-77, ago./dez. 2003.

LIMA, T. C. et al. Larvicidal activity of *Mentha x villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and derivatives. **Chemosphere**, Oxford, v. 104, n. 3, p. 37-43, June 2014.

LOPEZ, V. et al. Neuroprotective and neurochemical properties of mint extracts. **Phytotherapy Research**, London, v. 24, n. 6, p. 869-874, June 2010.

LOPEZ, V. et al. Neuroprotective and neurochemical properties of mint extracts. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 62, n. 4, p. 151-155, Dec. 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

LORENZO, D. et al. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay S. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 4, p. 519-524, May 2002.

LV, J. et al. Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. **Food Chemistry**, London, v. 132, n. 3, p. 1442–1450, June 2012.

MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 4, p. 1409-1418, Nov. 2007.

MANUKYAN, A. Effect of growing factors on productivity and quality of lemon catmint, lemon balm and sage under soilless greenhouse production: I. Drought stress. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 119–125, June 2011.

MCKAY, L. D.; BLUMBERG, B. J. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). **Phytotherapy Research**, London, v. 20, n. 8, p. 619–633, Aug. 2006.

MEIRA, R. M. et al. Crescimento vegetativo, produção de fitomassa e de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. sob diferentes lâminas de irrigação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 5, p. 779-785, May 2013.

MIMICA-DUKIC, N.; BOZIN, B. *Mentha* L. species (Lamiaceae) as promising sources of bioactive secondary metabolites. **Current Pharmaceutical Design**, San Francisco, v. 14, n. 29, p. 3141-3150, Feb. 2008.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 405-410, Sept. 2002.

MONTE, F. J. Q.; OLIVEIRA, E. F. Triterpenóidespentacíclicos de *Mentha x Villosa*: identificação estrutural e atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono. **Química Nova**, Ribeirão Preto, v. 24, n. 4, p. 491-500, Oct. 2001.

NEVES, M. J. et al. Actividade antioxidante avaliação *in vitro* da citotoxicidade de extratos aquosos de folhas de *Mentha piperita*. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, Porto, v. 6, n. 1, p. 344-354, Apr. 2009.

NOWAK, M. et al. Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, Gottingen, v. 83, n. 2 p. 133–36, Dec. 2010.

OLIVER, A. E. et al. Non-disaccharide-based mechanisms of protection during drying. **Cryobiology**, San Diego, v. 43, n. 2, p. 151-167, Sept. 2001.

OLSEN, H. T. et al. Isolation of the MAO-inhibitor naringenin from *Mentha aquatica* L. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 117, n. 3, p. 500-502, May 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants**. Geneva: Organização Mundial da Saúde, 2003. 72 p.

PEREIRA, O. R.; CARDOSO, S. M. Overview on mentha and thymus polyphenols. **Current Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 9, n. 3, p. 382-396, Dec. 2013.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the phenol-explorer database. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 64, n. 3, p. 112-120, Nov. 2010.

RADÜNZ, L. L. **Efeito da temperatura do ar de secagem no teor e na composição dos óleos essenciais de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e hortelã-comum (*Mentha x villosa* Huds).** 2004. 90 p. Tese (Doutorado em Engenharia agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling and Behavior**, Elmsford, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, Nov. 2011.

RIM, I. S.; JEE, C. H. Acaricidal effects of herb essential oils against dermatophagoides farinae and D. pteronyssinus (Acari: Pyroglyphidae) and qualitative analysis of a herb menthapulegium (pennyroyal). **Korean Journal of Parasitology**, Coréia do Norte, v. 44, n. 2, p. 133-138, June 2006.

SAMARASEKERA, R.; WEERASINGHE, I. S.; HEMALAL, K. D. P. Insecticidal activity of menthol derivatives against mosquitoes. **Pest Management Science**, Sussex, v. 64, n. 3, p. 290-295, Mar. 2008.

SCHWOB, I. et al. Changes in essential oil composition in Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 32, n. 10, p. 735, Oct. 2004.

SCHWOB, I. et al. Changes in essential oil composition in Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. **Biochemical Systematics And Ecology**, Oxford, v. 32, n. 8, p.735-745, Aug. 2004.

SELMAR, D.; KLEINWACHTER, M. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 54, n. 6, p. 817-826, Apr. 2013.

SHAO, H. B. et al. Main antioxidants and redox signalling in higher plant cells. **International Journal of Biological Sciences**, Oxford, v. 44, n. 6, p. 12–18, July 2008.

SMIRNOFF, N. The role of active oxygen in the response to water deficit and desiccation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 125, n. 1, p. 27-58, Mar. 1993.

SOUSA, P. J. C. et al. Antinociceptive effects of the essential oil of *Mentha × villosa* leaf and its major constituent piperitenone oxide in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 42, n. 7, p. 655–659, July 2009.

SOUSA, P. J. C. et al. Effects of piperitenone oxide on the intestinal smooth muscle of guinea pig. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 6, p. 787-791, June 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TELES, S. et al. Effect of geographical origin on the essential oil content and composition of fresh and dried *Mentha×villosa* Hudson leaves. **Industrial Crops and Products**, London, v. 46, p. 1-7, Apr. 2013.

TRIPATHI, A. K. et al. Piperitenone oxide as toxic. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, Jordan, v. 4, n. 1, p. 47-54, 2010.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Plant responses to drought and rewatering. **Plant Signaling & Behavior**, Elmsford, v. 5, n. 6, p. 649-654, June 2010.

YI, W. G.; WETZSTEIN, H. Y. Anti-tumorigenic activity of five culinary and medicinal herbs grown under greenhouse conditions and their combination effects. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, n. 10, p. 1849-1854, Mar. 2011.

ZHU, Z.; LIANG, Z.; HAN, R. Saikosaponin accumulation and antioxidant protection in drought-stressed *Bupleurum chinense* DC. plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 66, n. 2, p. 326–333, May 2009.
ZIDORN, C.; STUPPNER, H. Evaluation of chemosystematic characters in the genus *Leotodon* (Asteraceae). **Taxon**, Utrecht, v. 50, n. 115, p. 115-133, May 2001.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 Crescimento de *Mentha piperita* L. cultivada sob diferentes disponibilidades hídricas e sua influência na composição química e capacidade antioxidante do óleo essencial

Diogo M. da Silva Lordêllo¹
José Eduardo Brasil P. Pinto¹
Suzan Kelly Vilela Bertolucci¹
João Paulo Rodrigues D. Barbosa²
Smail Aazza³

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme orientação do Manual de Normalização da UFLA.

¹ Departamento de agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG.
² Departamento de biologia (DBI), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG
³ Departamento de química e farmácia (DQF), Universidade do Algarve (UALG), Campos de Gambelas, Faro – Portugal.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o crescimento vegetativo de *Mentha piperita* cultivada sob diferentes disponibilidades hídricas e determinar o teor, a composição química e a atividade antioxidante do seu óleo essencial. As plantas foram propagadas por microestacas de plantas matrizes do Horto Medicinal da UFLA. As mudas foram transplantadas para vasos de 5L contendo solo e esterco bovino. Os tratamentos foram constituídos por quatro níveis de umidade: (T1) 100-85% da capacidade de campo (CC); (T2) 80-65% da CC; (T3) 60-45% da CC; (T4) 40-25% da CC, com cinco blocos, sendo que cada parcela experimental foi composta por cinco plantas. As plantas foram mantidas na capacidade de campo por 30 dias e sob tratamento por 40 dias. Após esse período todas as partes das plantas foram desidratadas e submetidas a avaliações de crescimento vegetativo. O óleo essencial das folhas foi extraído por hidrodestilação, analisado por CG-FID e CG-EM e avaliado seu potencial antioxidante. As matérias secas de folha e caule reduziram no menor nível de capacidade de campo e a matéria seca da raiz aumentou. O déficit hídrico alterou significativamente a composição química quantitativa do óleo essencial. O déficit hídrico elevou a capacidade antioxidante total e poder quelante dos óleos, mas não houve variação significativa na capacidade de eliminação de DPPH.

Palavras-chave: *Mentha*. Déficit hídrico. DPPH. Poder quelante.

1 INTRODUÇÃO

A *Mentha piperita* (hortelã-pimenta) é um híbrido estéril da *Mentha x spicata* e *Mentha x aquatica* pertencente à família Lamiaceae. É fonte de um valioso óleo essencial usado para dar o sabor de hortelã a vários produtos, fragrâncias e produtos farmacêuticos. Sua produção e consumo estão em pleno crescimento ao longo das últimas décadas (LAWRENCE, 2006). Várias atividades biológicas, baseadas em modelos *in vitro*, em animais e em humanos, têm sido atribuídos à *Mentha piperita*, incluindo ações antioxidante, antitumoral, antimicrobiana e antialérgica (LV et al., 2012; SINGH; SHUSHNI; BELKHEIR, 2015).

Devido a sua utilização industrial, essa espécie tem uma grande importância econômica. De acordo com a FAO/ONU (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2010), a produção mundial de *M. piperita* foi de aproximadamente 81.241 toneladas, sendo a África o maior produtor (71.880 toneladas), representando 89% da produção. De acordo com Bizzo, Hovell e Rezende (2009), o óleo essencial da *Mentha piperita* é o quinto mais comercializado no mundo.

Os constituintes químicos principais do óleo de hortelã-pimenta são mentol, mentona, mentofurano, acetato de mentila e pulegona. Embora, os teores desses constituintes químicos sejam variáveis, conforme a localização geográfica do cultivo ou o resultado da combinação de diversos outros fatores, tais como genótipo, ontogenia, luz, temperatura, água e nutrientes (AFLATUNI, 2005).

O déficit hídrico é caracterizado como um dos mais importantes fatores que limitam a produtividade agrícola e desempenha um papel importante na distribuição de espécies de plantas em diferentes tipos de ambientes, além de afetar o crescimento e o metabolismo das plantas (ASHRAF, 2010; XU; ZHOU; SHIMIZU, 2010). Nos últimos anos, houve um aumento no interesse em compreender o modo como as plantas se adaptam a ambientes adversos. Estas adaptações podem envolver os metabolismos primário e secundário das plantas, alterando assim o crescimento e a concentração dos metabólitos secundários como resposta a fatores ambientais (DEY; HARBORNE, 2000). Conforme Saeidnejad et al. (2013), as respostas fisiológicas e metabólicas de diversas culturas em ambientes secos têm sido bem estudadas, mas estudos com plantas medicinais e aromáticas são escassos.

Segundo Selmar e Kleinwachter (2013), plantas expostas ao déficit hídrico tendem a aumentar as concentrações de metabólitos secundários. Estas variações são relatadas em quase todas as classes de metabólitos tais como fenóis, terpenos, alcaloides, glicosídeos cianogênicos e glucosinolatos. Em condições de baixa disponibilidade hídrica, *Melissa officinalis* (MEIRA et al., 2013) e *Ocimum basilicum* L. (RADÁCSI et al., 2010), apresentaram maior produção e teor de óleo essencial. Entretanto, a redução da disponibilidade de água para *Mentha spicata* resultou em menores rendimentos de óleo essencial (OKWANY et al., 2011).

A baixa disponibilidade de água é, muitas vezes, associada ao aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS), tais como o ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila

(HO) e oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$). Em plantas, as EROS podem ser produzidas em diferentes compartimentos celulares incluindo cloroplastos, mitocôndrias, membranas plasmáticas, peroxissomos, parede celular e apoplastos (SHAO et al., 2008; SMIRNOFF, 1993). São considerados subprodutos inevitáveis do metabolismo aeróbico sendo continuamente produzidos e removidos das células por mecanismos antioxidativos enzimáticos e não enzimáticos (MITTLER, 2002; ZHU; LIANG; HAN, 2009). Plantas submetidas a estresse ambiental evoluem um complexo e eficiente sistema antioxidante capaz de neutralizar os efeitos prejudiciais das EROS (ZHU; LIANG; HAN, 2009).

Objetivou-se avaliar o crescimento vegetativo de *M. piperita* cultivada sob diferentes disponibilidades hídricas, bem como sua influência no acúmulo da composição química e da atividade antioxidante *in vitro* do óleo essencial.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção do material vegetal e condições de crescimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Agricultura na Universidade Federal de Lavras (DAG/UFLA).

As mudas foram obtidas por meio de microestacas de ponteira, com aproximadamente 5cm, retiradas de plantas matrizes do Horto Medicinal da UFLA. Estas foram cultivadas em bandejas com substrato comercial Hortplant® por 15 dias em casa de vegetação, com irrigação constante. Após o enraizamento foram transplantadas para vasos com capacidade de 5L, contendo 4kg da mistura solo e esterco bovino na proporção 3:1. O solo utilizado foi coletado na camada de 0-20cm de profundidade, de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (SANTOS et al., 2006), em Lavras, MG.

O período experimental foi de 70 dias, sendo que durante 30 dias as plantas foram irrigadas com o volume de água referente à capacidade de campo (CC) em turnos de rega de 72h, para adaptação e para possibilitar o crescimento mais uniforme das mudas. Em seguida, as plantas de menta foram mantidas sob quatro níveis de capacidade de campo. A CC foi determinada pelo método gravimétrico após 72h de drenagem (AZEVEDO NETO et al., 2010). Na colheita aos 70 dias, as plantas foram separadas em caules, folhas e raízes e desidratadas em estufa com circulação de ar forçado a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ para a determinação da matéria seca.

Os tratamentos foram constituídos por quatro níveis de umidade: (T1) 100-85% da CC; (T2) 80-65% da CC; (T3) 60-45% da CC; (T4) 40-25% da CC), com cinco blocos, sendo que cada parcela experimental foi composta por cinco plantas. Para as análises estatísticas dos dados, utilizou-se o programa Sisvar, versão 5.3 (FERREIRA, 2010). As médias entre os tratamentos foram submetidas à análise de variância, pelo teste F, e comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

2.2 Extração, teor, rendimento e análises químicas do óleo essencial

Para extração do óleo essencial, empregou-se 30g de folhas secas de *M. piperita* que foram hidrodestiladas com um litro de água, em aparelho de Clevenger modificado, por 120 minutos. Os óleos foram separados por decantação e armazenados em frascos âmbar com capacidade de 2mL e mantidos sob refrigeração (4°C), até as análises químicas. O teor de óleo essencial foi determinado e expresso em mg . 100g⁻¹ de matéria seca das folhas, assim como o rendimento que foi expresso em g Kg⁻¹ de matéria seca de folhas.

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica do DAG/UFLA, preparando-se amostras compostas de alíquotas equivolúmetricas dos óleos essenciais das repetições de cada tratamento experimental.

As análises quantitativas do óleo foram realizadas por cromatografia em fase gasosa acoplado a um detector de ionização em chama de hidrogênio (CG-DIC) em um sistema Agilent® 7890A equipado com coluna capilar DB-Wax (30m de comprimento × 0,25mm

de diâmetro interno \times 0,25 μ m de espessura do filme) (Agilent J&W). Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,0mL/min; as temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 230°C e 240°C respectivamente. A temperatura inicial do forno foi de 60°C, isotérmico por 2min, seguido por uma rampa de temperatura de 3°C/min até 190°C, seguida de uma rampa de 10°C/min até 220°C, mantendo-se em condição isotérmica por 1,5min. O óleo foi diluído em acetato de etila (1%, v/v) e injetado automaticamente no cromatógrafo empregando volume de injeção de 1,0 μ L, no modo *split* a uma razão de injeção de 1:50. A análise quantitativa foi obtida pela integração do cromatograma total de íons (TIC) e o teor dos constituintes eluídos expressos como porcentagem de área relativa das áreas dos picos.

As análises qualitativas do óleo foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada ao detector seletivo de massas (CG-EM), utilizando-se um equipamento Agilent® 5975C, operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma velocidade de 1,0 scan/s, com um intervalo de aquisição de massas de 40-400m/z. As condições cromatográficas foram as mesmas utilizadas nas análises quantitativas.

Os componentes foram identificados por comparação de seus índices de retenção calculados com dados de espectros de massas e índices de retenção tabulados por Davies (1990) e por comparação dos espectros de massas com o banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, 2008). Os índices de retenção de Kovats (IKc) relativos à coinjeção de

padrão de *n*-alcanos, C₈-C₂₀ (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) foram calculados com a aplicação da equação de Vanden Doole Kratz (1963).

2.3 Reagentes

Ácido sulfúrico 0,6M, fosfato de sódio monobásico 28 mM, molibdato de amônio e 2,2-difenyl-1-picrilhidrazil (DPPH) foram adquiridos da Sigma-Aldrich[®], Alemanha). Ferrozina e FeCl₂·4H₂O foram adquiridos da Acrosorganics[®], EUA).

2.4 Capacidade antioxidante total pelo método de redução do molibdato de amônio

A capacidade antioxidante total foi mensurada baseada no método de redução do molibdato de amônio descrito por Prieto, Pinedae Aguilar (1999). Os óleos foram misturados com 1,5mL da solução reagente (ácido sulfúrico 0,6M, fosfato de sódio monobásico 28mM, molibdato de amônio 4mM).

Após 90 minutos de incubação a 95°C, as amostras foram resfriadas até temperatura ambiente e suas absorbâncias foram mensuradas a 695nm em um espectrofotômetro TECAN Infinity[®] M200 PRO. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em mg equivalentes em ácido ascórbico por g de peso seco da amostra (mg EAA /g).

2.5 Determinação do poder quelante dos óleos essenciais

O grau de quelação dos íons de ferro II pelos óleos essenciais e seus principais componentes foi avaliado de acordo com Miguel et al. (2014). As reações foram realizadas nos poços das microplacas sendo utilizada a amostra bruta e quatro diluições seriadas 0,04 - 0,30mg/mL de extrato.

Nas microplacas, foram colocados 100µl nos poços de amostras seguido de 60µl de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2mM). Adicionou-se 100µl de ferrozina (5mM) e, após 10 minutos, foi mensurada a absorbância a 562nm em um espectrofotômetro TECAN Infinity[®] M200 PRO. Uma amostra não tratada serviu como controle. A porcentagem da capacidade quelante foi determinada de acordo com a seguinte fórmula: $[(A0 - A1) / A0 * 100]$, em que A0 é a absorbância do controle e A1 a absorbância da amostra.

Cada concentração dos extratos foi avaliada em triplicata e a concentração que apresentou 50% da atividade quelante (IC_{50} mg/mL) foi determinada e expressa pela média.

2.6 Atividade de eliminação de radicais livres (DPPH)

Foram realizadas diluições seriadas de 0,01 - 0,30mg/mL das amostras, sendo utilizadas no teste quatro diluições. Volumes de 30µl de cada amostra, nas diferentes concentrações, foram transferidos para os poços da microplaca e onde também foram adicionados 270µl de solução

metanólica de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). BHT foi utilizado como controle positivo.

A absorbância foi medida a 517nm em espectrofotômetro TECAN Infinity[®] M200 PRO após 60min de reação em temperatura ambiente. Os valores de IC₅₀ foram determinados como descrito acima. Os testes foram realizados em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento vegetativo

A disponibilidade hídrica afetou significativamente os parâmetros de crescimento, rendimento e a composição química do óleo essencial ($p < 0,05$). A maior produção de matéria seca de folhas (MSF) e de caules (MSC) foi obtida no nível máximo de umidade, em contrapartida, maior matéria seca de raiz (MSR) e relação raiz parte aérea (R/PA) foram obtidos ao nível de 40% da capacidade de campo (Tabela 1).

Observou-se que a MSF, na faixa de umidade de 100%, foi 31% superior ao tratamento com 40% de umidade. No entanto, a MSR na faixa de umidade de 40% foi 66% superior ao do tratamento com 100% de umidade do solo. A matéria seca total (MST) na faixa de umidade de 40% foi apenas 9% inferior ao tratamento com maior nível de umidade. Griffiths e Parry (2002) sugeriram que a redução da produção de matéria seca, em plantas sujeitas a déficit hídrico, se torna mais visível na medida em que a exposição ao déficit é mais prolongada. Plantas cultivadas sob boas condições de umidade do solo apresentam crescimento superior aos tratamentos sob déficit hídrico (CASTRO et al., 2005).

Tabela 1 Produção de matéria vegetal de *Mentha piperita* submetida a diferentes níveis de umidade do solo

Capacidade de Campo	MSF ¹ (g/planta)	MSC ² (g/planta)	MSR ³ (g/planta)	MST ⁴ (g)	R/PA ⁵
100%	11.50 a	13.69 a	4.58b	29,77 a	0.18 b
80%	9.42 ab	11.86 ab	4.41b	25,69 b	0.20 b
60%	9.57 ab	12.26 ab	4.78b	26,61 ab	0.22 b
40%	7.93 b	11.55 b	7.60a	27,08 ab	0.38 a

Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de $P < 0,05$ segundo o teste de Tukey; ¹ Matéria seca das folhas; ² Matéria seca do caule; ³ Matéria seca das raízes; ⁴ Matéria seca total; ⁵ Relação raiz/parte aérea.

Outros estudos demonstraram os efeitos fisiológicos do déficit hídrico no crescimento de *Melaleuca alternifolia* Cheel (SILVA et al., 2002) e *Catharanthus roseus* (JALEEL et al., 2008).

O déficit hídrico provocou um maior efeito no crescimento do sistema radicular do que na parte aérea, influenciando no crescimento da relação matéria seca da raiz/parte aérea. No presente estudo, foi observado que as plantas de *M. piperita* desenvolveram uma estratégia de adaptação para suprir a falta de água no solo, pois sob condições de déficit hídrico houve incremento do crescimento das raízes (Figura 1). Dentre as estratégias utilizadas pelas plantas com o objetivo de reduzir ou retardar os efeitos causados pela deficiência hídrica está a capacidade de alterar seu crescimento (TAIZ; ZEIGER, 2013). Neste trabalho, essas estratégias ficaram evidentes ao se observar a relação R/PA e o maior crescimento do sistema radicular das plantas na menor capacidade de campo.

Resultado semelhante foi observado por Figueirôa, Barbosa e Simabukuro (2004), avaliando os efeitos de diferentes capacidades de campo em aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão), obtiveram

aumento da relação R/PA, evidenciando maior realocação de matéria seca para a raiz com menores níveis de capacidade de campo. A ligação entre maior resistência ao déficit hídrico com a relação raiz/ parte aérea é evidenciada por Pinheiro et al. (2005) em clones de *Coffea canephora* com maior resistência à deficiência hídrica, os quais apresentaram relação raiz/parte aérea mais elevada do que os clones menos resistentes. Este fenômeno atua em todo o crescimento da planta, reduzindo seu potencial de crescimento na parte aérea, porém, estimulando o crescimento das raízes, na tentativa de alcançar água em maiores profundidades do solo (SOARES; NASCIMENTO, 1998).

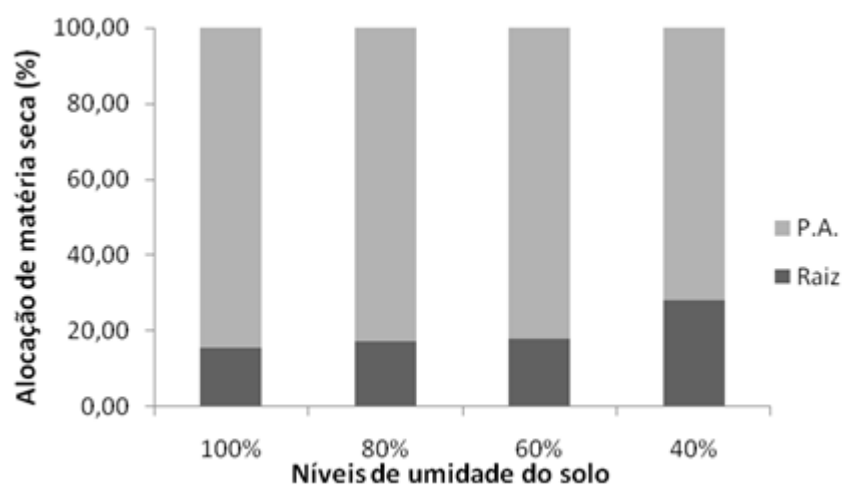


Figura 1 Partição de matéria seca da parte aérea (PA) e raiz de *M. piperita* cultivadas sob diferentes faixas de umidade do solo

3.2 Rendimento, teor e análise química do óleo essencial

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) no rendimento do óleo essencial de *M. piperita* dentre os diferentes níveis de umidade. Os valores mais significativos foram observados nas plantas cultivadas com 100%, 80% e 60% da capacidade de campo (Figura 2a). Quanto aos teores de óleos essenciais, não foi observada diferença estatística significativa (Figura 2b). Entretanto, há relatos na literatura que afirmam que os teores de óleo essencial de *M. piperita* variam na ordem de 0,9% a 3,9% (MICKAY; BLUMBERG, 2006). Charles, Joly e Simon (1990) relataram aumento no teor de óleo essencial quando a planta de *M. piperita* foi submetida a uma ou duas semanas de estresse hídrico, embora o rendimento do óleo tenha variado com duas semanas.

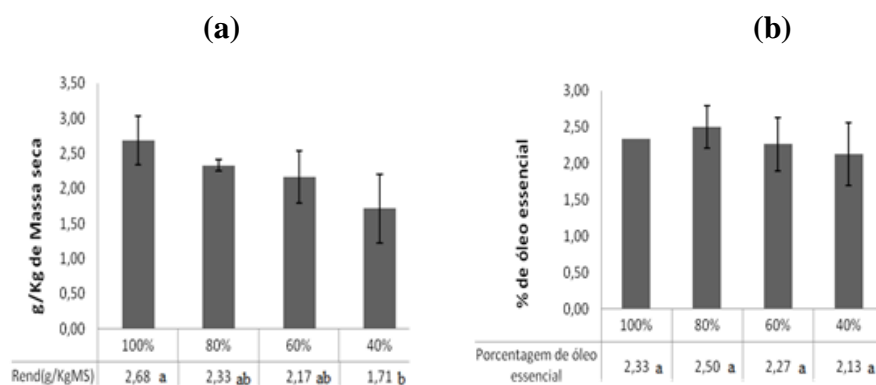


Figura 2 **(a)** Rendimento de óleo essencial de *Mentha piperita* L. sob diferentes níveis de umidade do solo. **(b)** Teor de óleo essencial de *Mentha piperita* L. sob diferentes níveis de umidade do solo

A redução no rendimento de óleo essencial pode ser devido à alteração da taxa fotossintética que, conseqüentemente, afeta o metabolismo de carboidratos, que por sua vez pode comprometer o metabolismo secundário (FLEXAS; BOTA; LORETO, 2004). Neste estudo houve uma redução de 31% de matéria seca das folhas no nível de 40% em relação ao nível hídrico de 100%. Estudos com *Ocimum basilicum* em diferentes níveis de umidade do solo demonstraram que os maiores rendimentos de óleo essencial são obtidos com o aumento da umidade do solo (KHALID, 2006; PRAVUSCHI et al., 2010). Corroborando aos resultados do presente estudo, Alvarenga et al. (2012) avaliaram diferentes lâminas de irrigação em *Lippia sidoides* e encontraram maiores rendimentos de óleo essencial com o aumento da disponibilidade hídrica. A elevação do rendimento de óleo também foi demonstrada nos estudos de Razmjoo, Heydarizadeh e Sabzalian (2008) com camomila. O efeito do déficit hídrico sobre o óleo essencial depende da planta e do genótipo podendo elevar, reduzir ou não surtir efeito sobre tal parâmetro (FARAHANI et al., 2009). Neste trabalho, não houve variação significativa para o teor de óleo essencial (Figura 2b). Ghanbari e Ariaifar (2013) observaram que o rendimento de óleo essencial reduziu com o aumento do nível de seca (70-30% da capacidade de campo) em *M. piperita* na região do Irã, contudo, diferente a este trabalho, o teor de óleo essencial sofreu acréscimo nesta mesma faixa de déficit hídrico.

O déficit hídrico influenciou na composição química quantitativa do óleo essencial de *M. piperita*. (Tabela 2). A análise química do óleo essencial de *M. piperita* identificou nove constituintes químicos entre os

tratamentos que correspondiam a mais de 80% da área total dos picos obtidos.

Houve diferença estatística nos teores de mentol e limoneno entre os níveis de umidade do solo, onde o menor valor de mentol foi observado com 40% de capacidade de campo, nos demais tratamentos, observou-se uma média de 29,11% e limoneno o menor valor em 100% da capacidade de campo. Em comparação com o tratamento controle, o mentol apresentou um decréscimo de 12% com 40% da capacidade de campo e o limoneno um incremento de 26% nesse mesmo nível de umidade do solo. Khorasaninejad et al. (2011) também relataram uma queda no teor de mentol em *M. piperita* sob déficit hídrico não observando variação para o limoneno.

Os demais componentes majoritários não variaram significativamente entre os tratamentos. Em estudos realizados por Charles, Joly e Simon (1990) não foram observadas alterações nos teores de mentol em plantas de *M. piperita* sob déficit hídrico. Khorasaninejad et al. (2011) relataram que mentona e mentofurano foram mais elevados em 100% da capacidade de campo e o nível de mentol foi em 70% da capacidade de campo. A queda do mentofurano é desejável por que este constituinte diminui a qualidade do óleo essencial de hortelã-pimenta. No entanto, a queda da mentona não é favorável devido este constituinte elevar a qualidade do óleo essencial (CLARK; MENARY, 2006), apesar de não serem encontradas diferenças significativas para mentona e mentofurano neste trabalho, observa-se que ao nível de 100% da capacidade de campo o valor percentual de mentofurano foi o menor

obtido indicando uma melhor qualidade do óleo nesse nível de umidade do solo.

Tabela 2 Efeito da disponibilidade hídrica na composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* L.

Constituintes ^a	Significância ^b	Capacidade de campo (%)			
		100	80	60	40
Monoterpenos		Área (% ± DP)			
Mentol	**	29,41±1,02a	28,94±2,31a	29,32±1,37a	25,98±1,39b
Mentona	ns	17,82±1,63a	18,56±2,04a	17,71±2,28a	19,42±2,93a
Mentofurano	ns	15,24±1,75a	17,56±0,69a	17,10±1,85a	16,76±1,90a
1,8-cineol	ns	5,58±0,31a	5,27±0,22a	5,65±0,70a	5,74±0,42a
Isomentol	ns	4,34±0,23a	3,92±0,39a	4,16±0,34a	4,05±0,51a
Pulegona	ns	3,45±0,46a	3,37±1,14a	3,16±0,78a	4,25±0,29a
Isomentona	ns	2,08±0,16a	2,11±0,09a	2,09±0,14a	2,14±0,26a
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	ns	1,65±0,15a	1,72±0,17a	1,66±0,07a	1,68±0,12a
Limoneno	**	1,49±0,10b	1,53±0,11b	1,57±0,06b	1,89±0,15a
TOTAL (%)		81,06	82,98	82,42	81,91

^a Constituintes químicos relatados na ordem de concentração em coluna DB-Wax. ^b Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de $p < 0,05$ segundo o teste de Tukey. DP: desvio padrão ($n=3$); ns não significativo.

3.3 Atividade antioxidante

Foi avaliada também a influência dos diferentes níveis de umidade na atividade antioxidante do óleo essencial de *M. piperita*. Foram testados, no presente trabalho, a atividade antioxidante total por redução do molibdato de amônio, o grau de quelação dos íons de ferro II e a capacidade de eliminação de radicais livres artificiais (DPPH).

Pôde-se observar que as diferentes disponibilidades hídricas influenciaram significativamente a ação antioxidante do óleo essencial. No teste de redução do molibdato, a atividade antioxidante total no menor nível de disponibilidade hídrica, elevou-se em cerca de 54% além da obtida ao nível de 100% da capacidade de campo. Pode-se observar que os níveis mais deficientes de umidade do solo (60 e 40% da capacidade de campo) apresentam maior atividade antioxidante (Tabela 3). As diferenças observadas na atividade antioxidante total podem estar associadas às diferenças químicas quantitativas observadas nos óleos essenciais entre os diferentes tratamentos. Segundo Amorati, Foti e Valgimigli (2013), óleos essenciais naturais são misturas de diferentes tipos de antioxidantes ou compostos terpenoides oxidáveis. Dependendo das condições experimentais, composição, interação sinérgica ou antagonista, estes podem desempenhar um papel importante na eficácia da ação antioxidante.

Tabela 3 Atividade antioxidante do óleo essencial de *M. piperita* L. cultivada sob diferentes níveis de disponibilidade hídrica

Capacidade de Campo (%)	Atividade Antioxidante Total ¹	DPPH ²	Poder Quelante ²
100	56,81± 4,59 b	4,73± 1,44 a	0,22± 0,09ab
80	63,30± 13,7 b	3,49± 0,65 a	0,18±0,06 b
60	99,22± 7,42 a	3,32± 0,37 a	0,40±0,20 ab
40	104,93± 18,0 a	4,06± 1,50 a	0,55± 0,22 a

Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de $P < 0,05$ segundo o teste de Tukey; ¹ Valores expressos em miligrama equivalentes em ácido ascórbico por g de óleo essencial (mg EAA /g); ² Valores de IC₅₀ mg/mL.

Para a atividade de eliminação do radical DPPH, não foram observadas diferenças significativas, sendo encontrada uma variação nas IC₅₀ de 3,32 a 4,73µg/mL. Ao contrário do observado para a atividade antioxidante total, as diferenças químicas quantitativas observadas nas análises químicas dos óleos essenciais dos diferentes tratamentos não influenciaram a capacidade de captura dos radicais DPPH. Vários trabalhos demonstraram a eficácia de eliminação de radicais DPPH por óleos essenciais de *Mentha*, esses valores de IC₅₀ variaram de 0,86 a 60,41µg/mL (GHARIB; SILVA, 2013; KIZIL et al., 2010; SCHMIDT et al., 2009). Portanto, os resultados observados no presente estudo corroboram com os encontrados por outros autores.

O óleo essencial de *M. piperita* L. é, em sua maior parte, composto de terpenos, principalmente monoterpenos. No entanto, uma quantidade variável de flavonoides pode ser extraída usando solventes orgânicos. Devido à composição química mais complexa, efeitos sinérgicos entre os diversos compostos podem ser crucial para o

estabelecimento antioxidante do óleo essencial, este efeito antioxidante pode-se dar, em primeiro lugar, devido ao comportamento antioxidante ou pró-oxidante de um antioxidante particular dependendo da sua concentração. Em segundo lugar, o potencial antioxidante de um composto pode variar quando ele é adicionado a uma mistura com outros componentes e diferentes técnicas de extração também afetam a composição efetiva, proporcionando diferentes atividades antioxidantes (AMORATI; FOTI; VALGIMIGLI, 2013; GONZALEZ-BURGOS; GOMEZ-SERRANILLOS, 2012).

Quanto ao poder de quelação de íons de ferro II, observou-se que não há distinção significativa entre os níveis de 100%, 60% e 40% de disponibilidade hídrica. Contudo o nível de 80% de umidade apresentou o menor valor de IC_{50} , apesar de também não ter apresentado diferenças estatísticas significativas quanto aos tratamentos de 100% e 60% da capacidade de campo.

4 CONCLUSÕES

Os diferentes níveis de umidade influenciaram significativamente no crescimento vegetativo, produção, composição química quantitativa e atividade antioxidante do óleo essencial de *M. piperita*. Os níveis de maior disponibilidade hídrica 100, 80 e 60% da capacidade de campo influenciaram num maior acúmulo de matéria seca da parte aérea demonstrando a pouca adaptabilidade da espécie a condições deficitárias de umidade do solo. Ao nível de 100% da capacidade de campo, houve elevação no rendimento do óleo essencial além de melhor qualidade do óleo com maiores teores de mentol. A atividade antioxidante total e o poder quelante foram influenciados pelo déficit hídrico, sendo estas atividades maiores ao nível de 40% da capacidade de campo. Não houve diferença entre os tratamentos quanto à atividade de eliminação de radicais DPPH. A *Mentha piperita* L. demonstrou baixa adaptabilidade a condições de déficit hídrico, sendo que em ambiente de boa disponibilidade de umidade do solo, a espécie apresenta crescimento, acúmulo e qualidade de óleo essencial satisfatórios, demonstrando não ser indicado o cultivo dessa espécie em ambientes com baixa disponibilidade de água.

Grown of *Mentha piperita* L. under different water levels growth and its influence on chemical composition and antioxidant capacity of essential oil

ABSTRACT

The objective was to evaluate the vegetative growth of *Mentha piperita* grown under different water availability and determining the content, the chemical composition and the antioxidant activity of essential oil. The plants were propagated by microcutting mother plants of Medicinal Garden of UFLA. The seedlings were transplanted to 5 L pots containing soil and manure). The treatments consisted of four levels of moisture: (T1): 100-85% of field capacity (FC); (T2): 80-65% of CC; (T3): 60-45% of CC; (T4) 40-25% of CC with 5 blocks, each experimental plot consisted of 5 plants. The plants were kept at field capacity for 30 days and under treatment for 40 days. After this period all the parts of the plants were dehydrated and subjected to vegetative growth ratings. The essential oil of the leaves was extracted by hydrodistillation, analyzed by GC-FID and GC-MS and evaluated their antioxidant potential. The dry matter of leaf and stem reduced the lower level of field capacity and the root dry matter increased. The drought significantly changed the quantitative chemical composition of the essential oil. The drought increased the total antioxidant capacity and chelating power of oil, but there was no significant change in DPPH elimination ability.

Key words: *Mentha*. Water deficit. DPPH. Chelating power.

REFERÊNCIAS

AFLATUNI, A. **The yield and essential oil content of mint (*Mentha* ssp.) in northern oostrobthania**. 2005. 50 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – University of Oulu, Oulu, 2005.

ALVARENGA, I. C. A. et al. Fator de resposta do alecrim-pimenta a diferentes lâminas de irrigação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 462-468, out./dez. 2012.

AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant activity of essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 61, n. 46, p. 10835-10847, Nov. 2013.

ASHRAF, M. Inducing drought tolerance in plants: recent advances. **Biotechnology Advances**, New York, v. 28, n. 1, p. 169-183, Jan. 2010.

AZEVEDO NETO, A. D. et al. Physiological and biochemical responses of peanut genotypes to water deficit to water deficit. **Journal of Plant Interactions**, London, v. 5, n. 1, p. 1-10, Mar. 2010.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 3, p. 588-594, mar. 2009.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25–30, June 1995.

CASTRO, P. R. C. et al. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 651 p.

CHARLES, D. J.; JOLY, R. J.; SIMON, J. E.; Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. **Phytochemistry**, New York, v. 29, n. 9, p. 2837-2840, Mar. 1990.

CLARK, R. J.; MENARY, R. C. The effect of two harvests per year on the yield and composition of Tasmanian peppermint oil (*Mentha piperita* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 35, n. 11, p. 1191–1195, Nov. 2006.

DAVIES, N. W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 503, p. 1-24, Jan. 1990.

DEY, P. M.; HARBONE, J. B. **Plant biochemistry**. London: Academy Press, 2000. 544 p.

FARAHANI, H. A. et al. Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. **Journal of Medicinal Plants Research**, Washington, v. 3, n. 5, p. 329-333, Sept. 2009.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: sistema de análise de variância: versão 5.3. Lavras: Editora da UFLA, 2010.

FIGUERÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 18, n. 3, p. 573-580, jul./set. 2004.

FLEXAS, J.; J. BOTA, F.; LORETO, G. Cornic and T.D. sharkey diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 6, n. 6, p. 269-279, May 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT**: data on peppermint yield and production by continent. Roma: FAO, 2010. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em 20.1.2015>. Acesso em: 15 mar. 2015.

GHANBARI, M.; ARIAFAR, S. The effects of water deficit and zeolite application on growth traits and oil yield of medicinal peppermint (*Mentha piperita* L). **International Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, Amsterdam, v. 3, n. 1, p. 32-39, Mar. 2013.

GHARIB, F.; SILVA, J. Composition, total phenolic content and antioxidant activity of the essential oil of four Lamiaceae herbs. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, Oxford, v. 7, n. 1, p. 19–27, Nov. 2013.

GONZÁLEZ-BURGOS, E.; GÓMEZ-SERRANILLOS, M. P. Terpene compounds in nature: a review of their potential antioxidant activity. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 19, n. 31, p. 5319-5341, Aug. 2012.

GRIFFITHS, H.; PARRY, M. A. J. Plant responses to water stress. **Annals of Botany**, London, v. 89, n. 1, p.801-802, Apr. 2002.

JALEEL, C. et al. Abdul et al. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: biointerfaces**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 298-303, Feb. 2008.

KHALID, K. A. Influence of water stress on growth, essential oil and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). **International Agrophysics**, Lublin, v. 20, n. 4, p. 289-296, Jan. 2006.

KHORASANINEJAD, S. et al. The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of Peppermint (*Mentha piperita* L.). **Journal of Medicinal Plants Research**, Oxford, v. 5, n. 22, p. 5360-5365, Oct. 2011.

KIZIL, S. et al. Mineral content, essential oil components and biological activity of two *Mentha* species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). **Turkish Journal of Field Crops**, Konak-İzmir, v. 15, n. 2, p. 148–153, Jan. 2010.

LAWRENCE, B. M. **Mint: the genus Mentha**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 598 p.

LV, J. et al. Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. **Food Chemistry**, London, v. 132, n. 3, p. 1442–1450, June 2012.

MCKAY, L. D.; BLUMBERG, B. J. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). **Phytotherapy Research**, London, v. 20, n. 8, p. 619–633, Aug. 2006.

MEIRA, R. M. et al. Crescimento vegetativo, produção de fitomassa e de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. sob diferentes lâminas de irrigação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 5, p. 779-785, May 2013.

MIGUEL, M. et al. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acetylcholinesterase activities of eleven extracts of moroccan plants. **Fresenius Environmental Bulletin**, Washington, v. 6, n. 24, p. 1-14, Feb. 2014.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 405-410, Sept. 2002.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library**. Gaithersburg: NIST, 2008.

OKWANY, R. O. et al. Impact of sustained deficit irrigation on spearmint (*Mentha spicata* L.) biomass production, oil yield, and oil quality. **Irrigation Science**, New York, v. 30, n. 3, p. 213-219, Mar. 2011.

PINHEIRO, H. A. et al. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. **Annals of Botany**, London, v. 96, n. 1, p. 101-108, Apr. 2005.

PRAVUSCHI, P. R. et al. Efeito de diferentes lâminas de irrigação na produção de óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 687-693, out./dez. 2010.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analysis Biochemistry**, Oxford, v. 269, n. 2, p. 337-341, June 1999.

RADÁCSI, P. et al. Effect of water supply on the physiological characteristic and production of Basil (*Ocimum basilicum* L.). **European Journal of Horticultural Science**, Belgium, v. 75, n. 5, p. 193-197, Oct. 2010.

RAZMJOO, K.; HEYDARIZADEH, P.; SABZALIAN, M. R. Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of matricaria chamomile. **International Journal of Agriculture & Biology**, Amsterdam, v. 10, n. 4, p. 451-454, Jan. 2008.

SAEIDNEJAD, A. H. et al. Effects of drought stress on quantitative and qualitative yield and antioxidative activity of *Bunium persicum*. **Turkish Journal of Botany**, Karadeniz, v. 37, p. 930–939, Jan. 2013.

SANTOS, H. G. dos et al. (Ed.). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.

SCHMIDT, E. et al. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of essential oil from *Mentha piperita*. **Natural Product Communications**, Essex, v. 4, n. 8, p. 1107–1112, Aug. 2009.

SELMAR, D.; KLEINWACHTER, M. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 54, n. 6, p. 817-826, Apr. 2013.

SHAO, H. B. et al. Main antioxidants and redox signalling in higher plant cells. **International Journal of Biological Sciences**, Oxford, v. 44, n. 6, p. 12–18, July 2008.

SILVA, S. R. S. et al. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1363-1368, Apr. 2002.

SINGH, R.; SHUSHNI, M. A. M.; BELKHEIR, A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal of Chemistry**, Amsterdam, v. 8, p. 322-328, Jan. 2015.

SMIRNOFF, N. The role of active oxygen in the response to water deficit and desiccation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 125, n. 1, p. 27-58, Mar. 1993.

SOARES, J. M.; NASCIMENTO, T. Distribuição do sistema radicular da videira em vertissolo sob irrigação localizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 2, p. 142-147, maio 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. J. A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.11, p. 463-471, June 1963.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Plant responses to drought and rewatering. **Plant Signaling & Behavior**, Elmsford, v. 5, n. 6, p. 649-654, June 2010.

ZHU, Z.; LIANG, Z.; HAN, R. Saikosaponin accumulation and antioxidative protection in drought-stressed *Bupleurum chinense* DC. plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 66, n. 2, p. 326-333, May 2009.

ARTIGO 2 Atividade antioxidante e compostos fenólicos totais de extratos aquosos e hidroalcoólicos de três espécies do gênero *Mentha*

Diogo M. da Silva Lordêllo¹

José Eduardo Brasil P. Pinto¹

Suzan Kelly Vilela Bertolucci¹

João Paulo Rodrigues D. Barbosa²

Smail Aazza³

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme orientação do Manual de Normalização da UFLA.

¹ Departamento de agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG.

² Departamento de biologia (DBI), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG

³ Departamento de química e farmácia (DQF), Universidade do Algarve (UALG), Campos de Gambelas, Faro – Portugal.

RESUMO

Com este trabalho objetivou-se quantificar os compostos fenólicos totais e comparar o potencial antioxidante *in vitro* de extratos aquosos e hidroalcoólicos de *M. piperita*, *M. villosa* e *M. rotundifolia*. O material vegetal foi colhido de plantas matrizes do Horto Medicinal da UFPA. Foram utilizados caules e folhas separadamente, secos em estufa e triturados em micromoinho de facas. Foram preparados os extratos aquosos (decoção) e hidroalcoólicos em etanol 70% (sonicação). Realizou-se a quantificação de fenólicos totais, flavonoides e dihidroflavonoides. Para mensurar a atividade antioxidante, realizaram-se os métodos de atividade antioxidante total pela redução do molibdato de amônio, poder quelante, poder redutor e atividade de eliminação de radicais livres (ABTS e DPPH). Os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides, independente da espécie de menta e do solvente utilizado, foram maiores nas folhas, e os extratos hidroalcoólicos possuem maiores teores de compostos fenólicos do que os extratos aquosos. Os extratos hidroalcoólicos das folhas das mentas apresentaram maior atividade antioxidante total, o poder de quelação dos extratos mostrou-se dependente do solvente, órgão da planta e espécie. A atividade de eliminação de radicais ABTS e DPPH é mais eficiente em extrato hidroalcoólico, as espécies demonstram elevado poder redutor, apenas em extrato hidroalcoólico observa-se a distinção entre caules e folhas para essa atividade.

Palavras-chave: Menta. Poder redutor. Poder quelante. Eliminação de radicais livres.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os efeitos na saúde de dietas ricas em compostos polifenólicos têm atraído a atenção de pesquisadores, nutricionistas e fabricantes de alimentos. A importância dos antioxidantes naturais vem sendo demonstrada por inúmeros estudos que têm comprovado que o consumo de alimentos ricos em tais fitoquímicos podem exercer efeitos benéficos sobre a saúde humana, especialmente na prevenção de doenças associadas ao estresse oxidativo, como cardiovasculares, neurodegenerativas e oncológicas (CYBORAN et al., 2011; JOSEPH et al., 1999).

A hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) está entre os mais populares ingredientes de chás. As ações medicinais desta planta estão relacionadas a desordens biliares, enterite e espasmos intestinais (MCKAY; BLUMBERG, 2006). Vários efeitos benéficos têm sido atribuídas à utilização de hortelã-pimenta. A lista de ações fisiológicas baseadas em modelos *in vitro* e em animais e estudos em humanos incluem ações antioxidante, antitumoral, antimicrobiana, antialérgico e imunomodulatório, digestivo, dentre outros (LV et al., 2012; MCKAY; BLUMBERG, 2006).

Mentha villosa Huds. é uma planta aromática, híbrido de *M. spicata* L. e *Mentha suaveolens* Ehrh., que comumente é utilizada na medicina popular brasileira (LAHLOU et al., 2001). Tem sido relatado o uso dessa espécie contra amebíases, giardíases, tricomoníases urogenitais e esquistossomose, dentre outras atividades farmacológicas (LAHLOU et al., 2001; SOUSA et al., 1997).

Mentha rotundifolia L. é um híbrido entre *Mentha longifolia* L. e *Mentha suaveolens* Ehrh., cujo óleo essencial tem sido objeto de vários estudos (LORENZO et al., 2002; RIAHI et al., 2013). Muitos quimiotipos são relatados, dentre eles um rico em óxido de piperitona, um monoterpene oxigenado cujos efeitos biológicos (efeitos cardiovasculares, agentes antibacterianos e antifúngicos, repelentes e retardadores de reprodução do vetor da malária *Anopheles stephensi*) têm sido investigados (DAMIEN et al., 2003; TRIPATHI et al., 2010).

O presente trabalho objetivou quantificar os compostos fenólicos totais e comparar o potencial antioxidante *in vitro* de extratos aquosos e hidroalcoólicos de *M. piperita*, *M. villosa* e *M. rotundifolia*.

2 METODOLOGIA

2.1 Reagentes e Espectrofotômetro

Solução de Folin-Ciocalteu; Carbonato de sódio (NaCO_3); Cloreto de Alumínio (AlCl_3); Ácido gálico; Ácido tiobarbitúrico; 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH); Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS); Ferri-cianeto de potássio [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$]; Deoxiribose; L(+)-Ácido ascórbico; Quercetina; 2,4-dinitrofenol; Hidróxido de potássio (KOH); Naringenina (Sigma-Aldrich[®], Steinheim, Alemanha).

Ácido Tricloroacético (VWR[®], Leuven, Bélgica); Ferrozina; EDTA, Persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$); Cloreto tetra-hidratado de ferro II ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Acros Organics[®], New Jersey, USA); Sulfato heptahidratado de ferro II ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (Panreac[®], Barcelona, Espanha); Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) Fisher Scientific[®], New Jersey, EUA).

As leituras espectrofotométricas foram mensuradas em leitora de microplacas TECAN Infinity[®] M200 PRO.

2.2 Material vegetal

Foram utilizados para o experimento três espécies do gênero *Mentha* (*Mentha villosa* Huds, *Mentha piperita* L e *Mentha rotundifolia* L). As espécies foram cultivadas no horto de plantas medicinais da Universidade Federal de Lavras (21°14'07" S; 44°58'22" O; 879 m de altitude). As amostras foram colhidas de plantas matrizes pré-

selecionadas, separadas as folhas dos caules, secas em estufa de circulação de ar forçada a 45°C.

2.3 Preparo dos extratos

Os extratos foram preparados por refluxo (decoção em sistema fechado) e sonicação, ambos a 5% (p/v), a partir de caules e folhas secos das três espécies de mentas. Os materiais vegetais foram pulverizados em micromoinho MARCONI modelo MA048. Para o preparo dos extratos por refluxo, os materiais vegetais (caules e folhas) foram individualmente destilados por 30 minutos em fervura em sistema fechado para reduzir as possíveis perdas por volatilização. Os extratos de caules e de folhas preparados por sonicação, foram sonicados em banho de ultrassom Nova, modelo NI1204, 50Hz, em etanol a 70% (extrato hidroalcoólico), durante ciclo de 30 minutos. Após os procedimentos extrativos, os extratos aquosos e hidroalcoólicos foram filtrados e mantidos em freezer a -20°C, até as análises.

2.4 Determinação dos fenóis totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais (FT) foi determinada pelo método colorimétrico usando o reagente Folin-Ciocalteu descrito por Slinkard e Singleton (1977). A curva de calibração foi preparada com ácido gálico. As reações foram realizadas em tubos de vidro. Utilizou-se 20µL dos extratos, 125mL de Na₂CO₃ e 100mL de solução etanólica de Folin-Ciocalteu a 10% (v/v). Em seguida, transferiu-

se 250µL para a microplaca de 96 poços, reagindo por 120 minutos no escuro, à temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 760nm. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em miligrama equivalentes em ácido gálico por g de peso seco da amostra (mg EAG /g).

2.5 Quantificação de flavonoides (flavonas e flavonóis totais)

O conteúdo de flavonoides totais nos extratos foi determinado pelo método de Ahn et al. (2007). Resumidamente, 100 µL de solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 2% foram misturados com o mesmo volume da solução de amostra (100 µL de cada extrato). Após 60 minutos à temperatura ambiente, as absorbâncias das amostras foram realizadas a 420nm, contra um branco [100 µL de solvente (água ou etanol 70%) + 100 µL solução de AlCl_3]. O conteúdo total de flavonoides foi determinado usando uma curva padrão de quercetina com cinco pontos de concentrações (0,125, 0,0625, 0,0312, 0,0156, e 0,0078 µg/mL). $Y=16,944x - 0,0351$, em que y é a absorbância e x é a concentração; $R^2 = 0,9999$). O conteúdo total de flavonoides foi expresso como miligramas de equivalentes de quercetina por grama de extrato seco (mg EQ /g).

2.6 Quantificação dos dihidroflavonoides totais

A quantificação de dihidroflavonoides totais foi realizada de acordo com Popova, Bankova e Butovska (2004). Foram misturadas

500µL de solução metanólica de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNP) com 200µL da solução de amostra ou padrão e aquecidas a 50°C por 50 minutos. Após arrefecimento à temperatura ambiente, foram adicionados 2mL de KOH 10% em metanol (v/v) à solução reagente (amostra+DNP). Em seguida, 50µL da solução reagente (amostra+DNP+KOH) foram diluídos em 500µL de metanol e centrifugados a 3.000rpm por 10 minutos. Um volume de 250µL de cada amostra foi transferido para os poços da microplaca. As absorvâncias foram lidas a 486nm, contra um branco [200µL de solvente (água/ etanol 70%)+ 500µL de DNP + 2.000µL de KOH 1%]. O conteúdo total de dihidroflavonoides foi determinado usando uma curva padrão de naringenina com seis pontos de concentrações (3; 1,5; 0,75; 0,375; 0,1875 e 0,0937 µg/mL). $Y=0,7118x - 0,0611$, em que y é a absorvância e x é a concentração; $R^2 = 0,9999$). Os resultados foram expressos em miligrama equivalentes em naringenina por g de extrato seco (mg EN/g).

2.7 Capacidade antioxidante total

A capacidade antioxidante total foi mensurada baseada no método de redução do molibdato de amônio descrito por Prieto, Pineda e Aguilar (1999). Para isto, 100µL dos extratos foram misturados com 3mL da solução reagente (ácido sulfúrico 0,6M, fosfato de sódio, 28mM e molibdato de amônio 4mM). Após reação por 90 minutos a 95°C, as amostras foram arrefecidas à temperatura ambiente e suas absorvâncias mensuradas a 695nm. Para cada extrato, o ensaio foi realizado em

triplicata e os resultados expressos em miligrama equivalentes em ácido ascórbico por g de peso seco da amostra (mg EAG /g).

2.8 Determinação do poder quelante

O grau de quelação dos íons de ferro II pelos extratos foi avaliado de acordo com Miguel et al. (2010). Em alíquotas de 100µL dos extratos adicionaram-se 30µL de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2mM). Em seguida, acrescentaram-se 40µL de ferrozina (5mM), as soluções reativas foram incubadas por 10 minutos a 25°C. A absorbância das soluções foi medida a 562nm. A porcentagem de inibição da formação do complexo ferrozina- Fe^{2+} foi determinada usando a fórmula: $[(A0 - A1) / A0 * 100]$, em que A0 é a absorbância do complexo ferrozina- Fe^{2+} e A1 a absorbância das amostras analisadas. Os resultados foram expressos como IC_{50} , correspondendo à concentração eficaz para a quelação de 50% de íons ferro de II. EDTA foi utilizado como um controle positivo e as amostras foram analisadas em triplicatas.

2.9 Atividade de eliminação de radicais livres (DPPH)

A atividade da captura de radicais livres por DPPH foi realizada conforme o método proposto por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Diferentes concentrações das amostras (3,12 – 0,19mg/mL) foram adicionadas a 270µL de solução metanólica de DPPH 0,2mM. As soluções foram incubadas à temperatura ambiente no escuro por 60 minutos e as leituras espectrofotométricas realizadas a 517nm. BHT foi

usado como controle positivo, enquanto o metanol foi usado como controle negativo. A atividade da captura de radicais livres por DPPH foi expressa pela porcentagem de inibição (50%), calculada pela fórmula: $IC_{50}(\%) = (A0-A1)/A0$, em que A0 é a absorbância do controle negativo e A1 a absorbância das amostras. A atividade de eliminação de radicais livres foi expressa como IC_{50} , correspondendo à concentração de extrato capaz de inibir 50% dos radicais DPPH.

2.10 Determinação do poder redutor

O método de Oyaizu (1986) foi usado para a determinação do poder redutor dos extratos de caules e folhas das três mentas. Volumes de 50 μ L das amostras foram misturados homogeneamente com 500 μ L de tampão fosfato de sódio 0,2M (pH 6,6) e 500 μ L de solução aquosa de ferricianeto de potássio a 1% (p/v). A mistura foi incubada a 50°C por 20 minutos. Em seguida, 500 μ L de solução aquosa de ácido tricloroacético a 10% (p/v) foram adicionados à mistura e, centrifugados a 5.000rpm por 10 minutos. O sobrenadante (0,5mL) foi misturado a 0,5mL de água destilada e 100 μ L de solução aquosa (de cloreto férrico a 0,1% (p/v). A intensidade da cor azul-verde foi medida a 700nm. O poder redutor foi expresso pelo valor da absorbância a 700nm. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo e os ensaios com os diferentes extratos realizados em triplicata.

2.11 Determinação da atividade de eliminação de radicais livres (ABTS)

O ensaio de descoloração catiônica do radical ABTS foi realizado utilizando o método descrito por Re et al. (1999) e Ling et al. (2009) com pequenas modificações. O cátion radical ABTS ($ABTS^{*+}$) foi produzido a partir da adição de 0,0768g de sal de ABTS e 0,0132 g de persulfato de potássio em 20mL de água destilada mantida em repouso no escuro à temperatura ambiente durante 16h antes da utilização. A solução estoque de $ABTS^{*+}$ foi diluída com etanol até alcançar a absorbância de $0,7 \pm 0,02$ em 734nm. BHT foi usado como controle positivo, enquanto o etanol foi usado como controle negativo.

Uma solução etanólica/aquosa (30 μ l) das amostras a várias concentrações foi misturada com 270 μ l de solução diluída de ABTS em microplaca. Depois da reação à temperatura ambiente durante 6 min, a absorbância a 734nm foi medida. Baixa absorbância da mistura de reação indica atividades mais elevadas. A capacidade para eliminar o $ABTS^{*+}$ foi calculada usando a fórmula dada abaixo: Atividade de eliminação de $ABTS^{*+}$ (%) = $[1 - (S - SB) / (C - CB)] * 100\%$ em que S, SB, C e CB são as absorbâncias da amostra, o branco amostra, o controle positivo e o controle negativo respectivamente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teores de Compostos Fenólicos

Foram realizadas extrações por sonicação e decocção das folhas e dos caules desidratados de *M. piperita*, *M. villosa* e *M. rotundifolia* empregando como líquidos extratores etanol 70% e água, respectivamente. Os teores de compostos fenólicos totais, independente da espécie de menta e do solvente utilizado foram maiores nas folhas (Figura 1). Resultado similar foi observado para *M. piperita* e *M. rotundifolia* para os teores de dihidroflavonoides. Porém, para *M. villosa*, os teores de dihidroflavonoides não apresentaram diferenças significativas para o extrato aquoso das folhas ($8,55 \pm 0,49$) e caules ($9,77 \pm 0,59$), mas para o extrato etanólico houve diferença de cerca de 50% entre os teores observados folhas ($13,74 \pm 1,23$) e nos caules ($6,80 \pm 0,81$) (Figura 1).

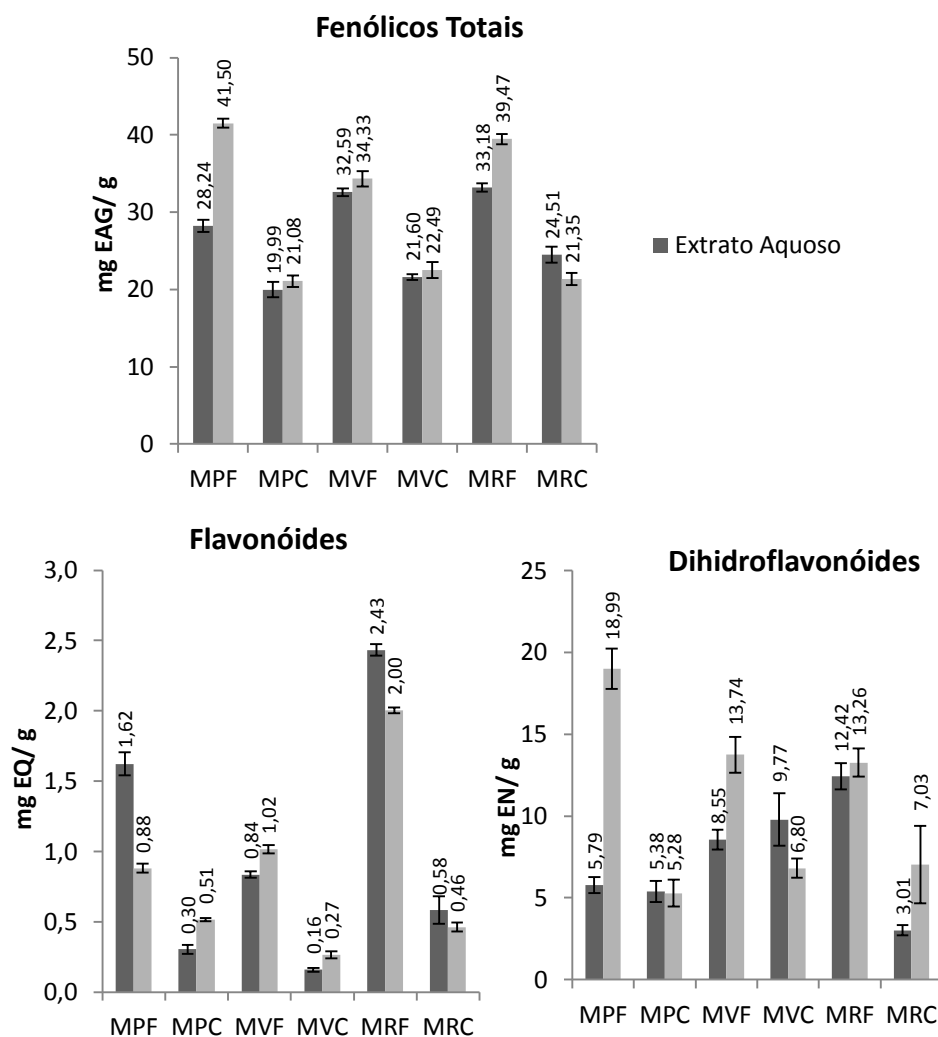


Figura 1 Teores de compostos fenólicos nos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas e caules de *M. piperita* (MPF e MPC), *M. rotundifolia* (MRF e MRC) e *M. villosa* (MVF e MVC), respectivamente. **Fenólicos totais:** expressos em mg equivalentes a ácido gálico/g de material vegetal seco (mg EAG/g). **Flavonóides:** expressos em mg equivalentes à quercetina/g de material vegetal seco (mg EQ/g). **Dihidroflavonóides:** expressos em mg equivalentes a naringenina/g de material vegetal seco (mg EN/g). Os dados representam a média \pm desvio padrão de determinações em triplicata

Os compostos fenólicos totais variaram de 19,98 a 41,5mg EAG /g de amostra; os flavonoides de 0,16 a 2,43mg EQ/g e os dihidroflavonoides de 3,01 a 18,99mg EN/g. Para os compostos fenólicos totais, extratos de mentas apresentam valores que variam de 15,09 a 230,8mg EAG /g (DORMAN et al., 2003; FARNAD; HEIDARI; ASLANIPOUR, 2014; MORAIS et al., 2013; NICKAVAR; ALINAGHI; KAMALINEJAD, 2008). Diversos autores descreveram teores de flavonoides em *Mentha* spp variando de 0,10 a 75,31mg/g de extrato (FARNAD; HEIDARI; ASLANIPOUR, 2014; J. OH et al., 2013; KANATT; CHANDER; SHARMA, 2007; CHANDAN; VISHWAKARMA; KHUSHBU, 2014) e para dihidroflavonoides de 0,10 a 19,0mg/g (DORMAN et al., 2003; DORMAN et al., 2009; FECKA;TUREK, 2007; KRZYZANOWSKA et al., 2011). A variabilidade nos teores de fenólicos está associada à natureza do solvente, o método de extração e a parte da planta utilizada (MIGUEL et al., 2014; STANKOVIC et al., 2012; TURKMEN; SARI; VELIOGLU, 2006).

O solvente influenciou expressivamente os teores de compostos fenólicos nos extratos foliares de *M. piperita*. Em geral, os resultados demonstraram que os extratos hidroalcoólicos apresentaram maiores teores de compostos fenólicos do que os extratos aquosos, com algumas exceções como os teores de flavonoides para os extratos foliares de *M. piperita* e *M. rotundifolia*. Oh et al. (2013) relataram que, em geral, os extratos etanólicos contêm mais compostos fenólicos do que extratos aquosos. Etanol e metanol são citados como melhores extratores de

compostos fenólicos em relação a solventes menos polares e a água (MOHSEN; AMMAR, 2009).

3.2 Atividades antioxidantes

No presente estudo, as atividades antioxidantes totais, captura dos radicais livres DPPH[•] e ABTS^{•+}, poder quelante e poder redutor do ferro II foram avaliados nos extratos aquosos e etanólicos de caules e folhas de *M. piperita*, *M. villosa* e *M. rotundifolia*.

A atividade antioxidante total nos diferentes extratos variou de 10,68 a 18,25mg EAA /g (Figura 2a). Os extratos das folhas das mentas apresentaram maior atividade antioxidante em relação aos caules, evidente tanto no extrato aquoso como no extrato hidroalcoólico. Entretanto, os extratos hidroalcoólicos das folhas das mentas estudadas demonstraram atividade antioxidante total ligeiramente superior aos dos extratos aquosos. A maior atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos das folhas pode ser explicada devido aos maiores teores de compostos fenólicos totais e dihidroflavonoides desses extratos (Figura 1). Esta afirmação é evidenciada pela correlação positiva observada entre a atividade antioxidante total e o teor desses compostos fenólicos (Figura 3a e 3i). Conforme Jayaprakasha, Girenavar e Patil (2008), variações na capacidade antioxidante de diferentes extratos podem ser atribuídas às diferenças na sua composição química, tais como os ácidos fenólicos e os flavonoides, polifenóis e atividade antioxidante são uma medida combinada da quantidade e qualidade de antioxidantes em vegetais.

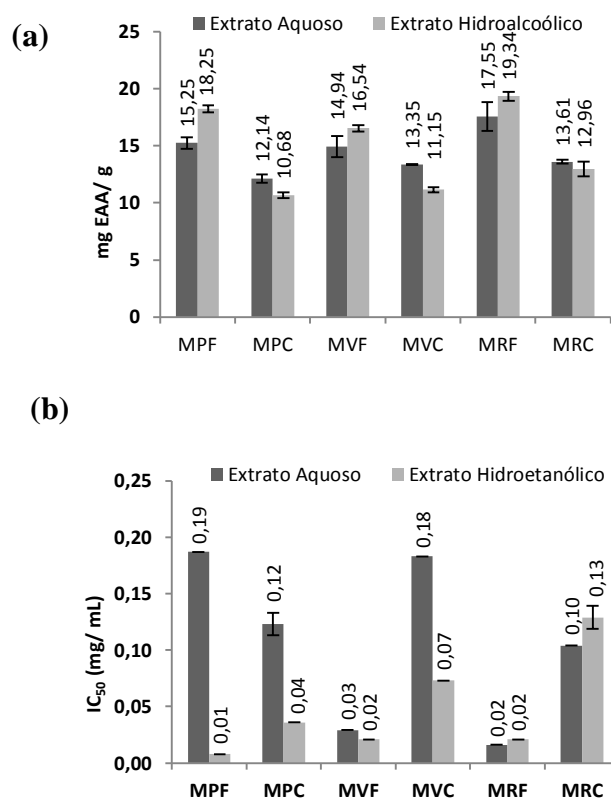
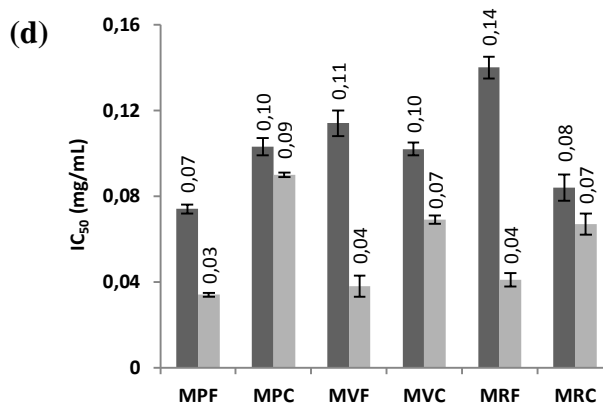
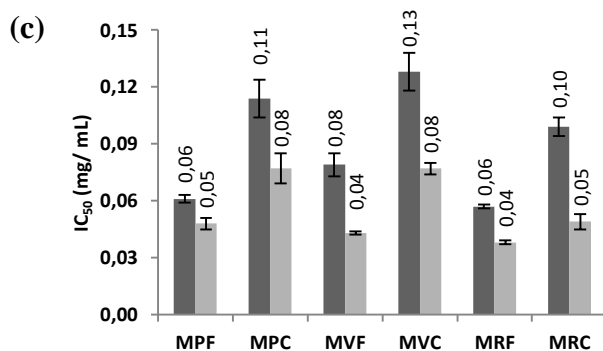


Figura 2 Atividades antioxidantes dos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas e caules de *M. piperita* (MPF e MPC), *M. rotundifolia* (MRF e MRC) e *M. villosa* (MVF e MVC). **(a)** Atividade antioxidante total em mg equivalentes ao ácido ascórbico/ g de material vegetal (mg EAA/g), **(b)** Poder quelante: padrão EDTA 0,06±0,01, **(c)** Captura de radicais livres de DPPH **(d)** Captura de radicais livres de ABTS. **(c,d)** IC₅₀ do BHT foi de 0,18±0,01mg/mL. Os dados representam a média ± desvio padrão de determinações em triplicata

(...continua...)

“Figura 2, conclusão”



Os compostos fenólicos têm sido referenciados como tendo múltiplos efeitos biológicos, incluindo a atividade antioxidante caracterizada pela eliminação ou impedimento da formação de radicais livres (BOULANOUAR et al., 2013). No presente estudo, observaram-se correlações positivas entre a capacidade antioxidante total e os teores de compostos fenólicos (Figuras 3a, 3e, 3i e Tabela 1). Corroborando com o presente estudo, Gião et al. (2009) compararam a capacidade antioxidante

observada com a quantidade de fenóis e, demonstraram uma alta correlação da atividade antioxidante com os teores de compostos fenólicos. Fatiha et al. (2012) e também observaram uma alta correlação dos compostos fenólicos e a atividade antioxidante total de *M. spicata* em extrato etanólico. Estes autores ainda afirmaram que os fenólicos são os compostos que mais influenciaram na atividade antioxidante total em *M. spicata*.

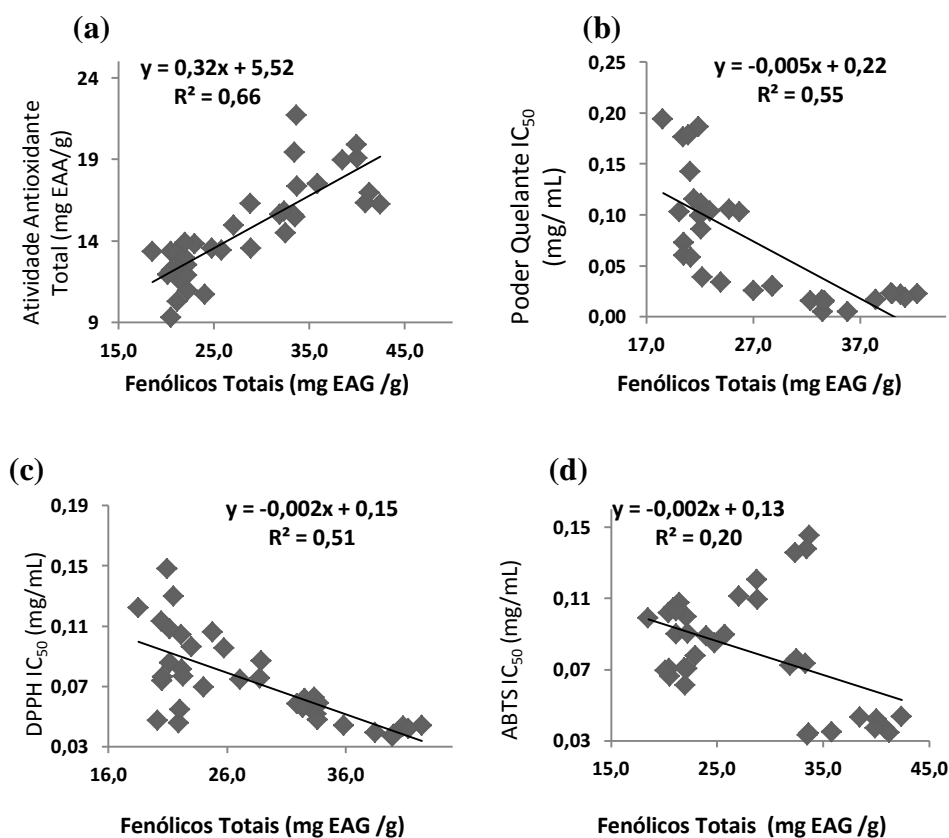
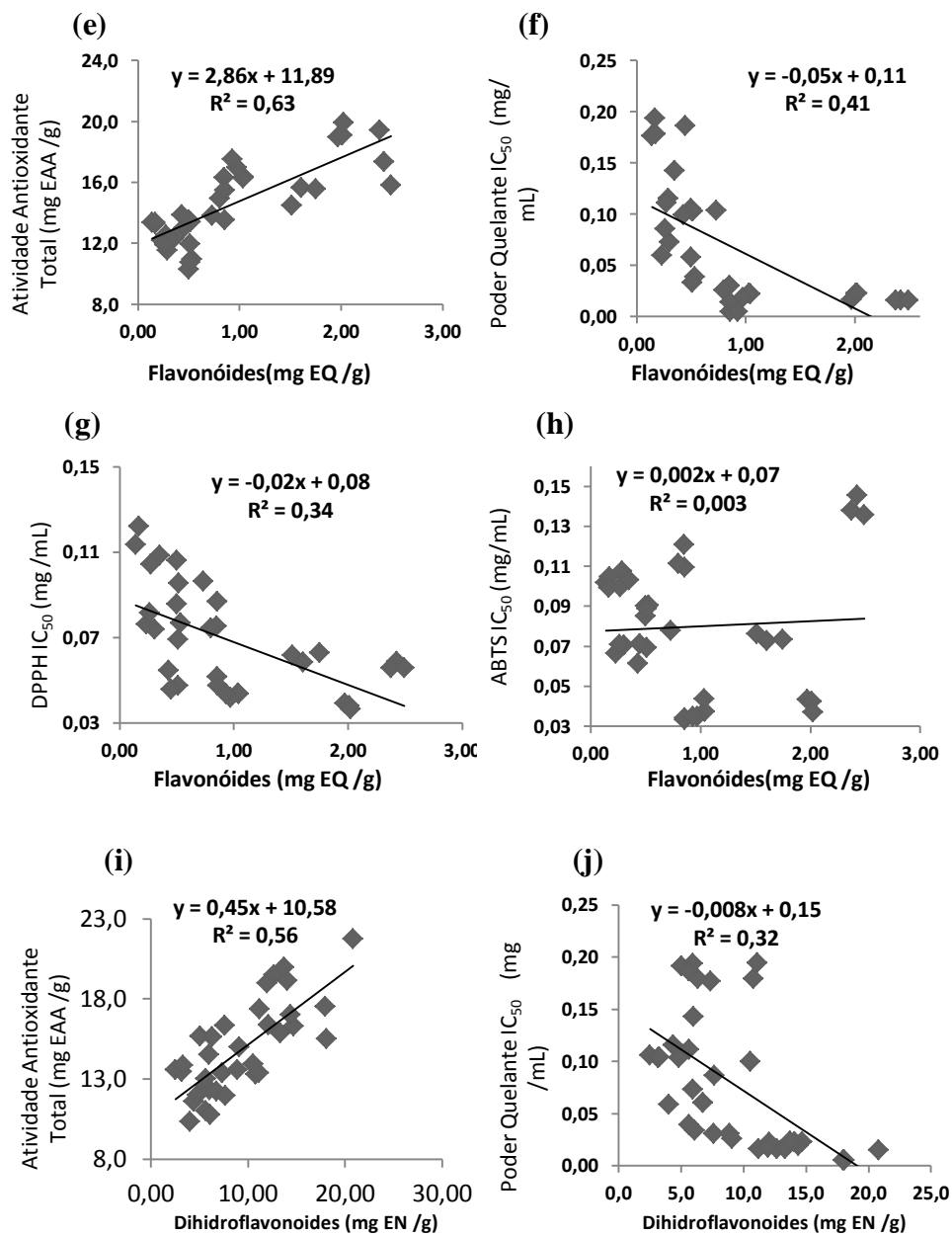


Figura 3 Correlação entre a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos dos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas e caules de *M. piperita*, *M. rotundifolia* e *M. villosa*. (a, e, i) Atividade antioxidante total, expresso em miligrama equivalente em ácido ascórbico por g de material vegetal (mg EAA/g) e teor de fenóis totais (mg EAG/g). (b, f, j) Poder quelante expresso em IC_{50} (mg/mL) e teor de fenóis totais (mg EAG/g). (c, g, k) Eliminação de radicais livres DPPH expressos em IC_{50} (mg/mL) e teor de fenóis totais (mg EAG/g). (d, h, l) Eliminação de radicais ABTS, expressos em IC_{50} (mg/mL) e teor de fenóis totais (mg EAG/g)

(...continua..)

“Figura 3, continuação”



“Figura 3, conclusão”

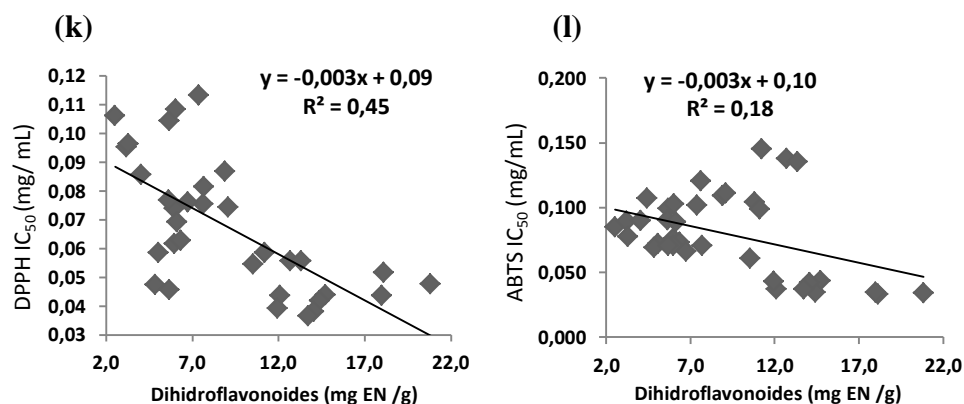


Tabela 1 Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre os compostos quantificados e a capacidade antioxidante total (teste do molibdato), poder quelante e atividade de eliminação de radicais DPPH e ABTS

Compostos	Molibdato	Poder quelante ¹	DPPH ¹	ABTS ¹
Fenólicos totais	0,817**	-0,535**	-0,713**	-0,448**
Flavonoides	0,714**	-0,371*	-0,599**	0,057**
Dihidroflavonoides	0,745**	-0,562**	-0,505**	-0,417**

*e ** significativo a 5 e a 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t. ¹IC₅₀ (mg/mL) das atividades.

Na avaliação da atividade quelante, a ferrozina, um reagente cromogênico, torna a solução rósea de acordo com a quantidade de ferro disponível em solução. Assim, quanto menor a quelação de íons pela amostra, maior o número de íons disponíveis para reação com a ferrozina e maior será a absorbância (MIGUEL et al., 2010). O poder de quelação dos extratos mostrou-se dependente do solvente, órgão da planta e espécie. Os extratos hidroalcolicos de folhas e caules de *M. piperita* e *M.*

villosa apresentaram maior poder quelante que seus respectivos extratos aquosos. Por sua vez, os extratos aquosos de caules e folhas de *M. rotundifolia* foram mais efetivos para a quelação dos íons férricos que os extratos hidroetanólicos. Os extratos hidroalcoólicos de folhas e caules de *M. piperita* e aquoso e hidroalcoólico de folhas de *M. villosa* e *M. rotundifolia* apresentaram poder de quelação superiores ao controle positivo, evidenciados por IC_{50} (mg/mL) mais efetivas que a do padrão EDTA (0,06mg/mL) em cerca de 17% a 34%. O extrato hidroalcoólico das folhas de *M. piperita* foi o que apresentou maior poder quelante. Por outro lado, os extratos aquosos dessa mesma espécie apresentaram o pior resultado para o poder de quelação. Ao contrário do observado no presente estudo, Riachi e Maria (2015) observaram que o extrato etanólico da *M. piperita* apresentou poder de quelação de íon de ferro 30% menor que o extrato aquoso.

Assim, como para as demais atividades antioxidantes estudadas, provavelmente o aumento da atividade quelante dos extratos hidroalcoólicos possa ser explicada pela elevação no teor de compostos fenólicos quando neste solvente. Esse fenômeno torna-se evidente ao analisar a correlação negativa encontrada entre o poder quelante (IC_{50}) e o teor de compostos fenólicos (Figuras 3b, 3f, 3j). Boulanouar et al. (2013) também observaram uma correlação negativa moderada entre a atividade de quelação de metais e teores de compostos fenólicos.

Os resultados da capacidade de sequestrar radicais livres (DPPH e $ABTS^{\cdot+}$) pelos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas e caules das três mentas estão apresentados nas Figuras 2c e 2d. Comparados ao controle positivo (BHT, $IC_{50}=0,18\text{mg/mL}$) todos os extratos mostraram-

se mais eficientes na captura de radicais livres DPPH e ABTS. Os extratos hidroetanólicos de caules e folhas de *M. piperita*, *M. rotundifolia* e *M. villosa* apresentaram maior capacidade de eliminação dos radicais (DPPH e ABTS⁺) em relação aos aquosos, sendo representados pelos menores valores de IC₅₀ (mg/mL). Avaliando a atividade antioxidante em *M. piperita* em diferentes solventes, Farnad, Heidari e Aslanipour (2014) também observaram maior atividade quando o solvente usado foi o etanol.

A eliminação de radicais DPPH e ABTS pelos extratos hidroetanólicos das folhas foi mais expressiva que pelos extratos hidroetanólicos dos caules em todas as espécies de mentas avaliadas (Figura 2c e 2d). O extrato foliar hidroalcoólico da *M. villosa* e de *M. rotundifolia* elevaram significativamente sua eficiência de eliminação de ABTS em comparação com os respectivos extratos aquosos.

Os resultados observados neste trabalho indicaram correlação negativa da capacidade de eliminação dos radicais livres DPPH (IC₅₀) em relação ao teor de compostos fenólicos (Figuras 3c, 3g, 3k). Ao aumentar a concentração de compostos fenólicos ou grau de hidroxilação de compostos fenólicos, a sua atividade de eliminação de radicais DPPH também aumenta, e pode ser atribuída à atividade antioxidante (SANCHEZ-MORENO; LARRAURI; SAURA-CALIXTO, 1999). Vários autores demonstraram a alta eficiência de eliminação de radicais DPPH em extratos de espécies do gênero *Mentha* além de sua alta correlação com a quantificação de compostos fenólicos (AHMAD et al., 2012; FATIHA et al., 2012; NICKAVAR; ALINAGHI; KAMALINEJAD, 2008).

Os extratos hidroalcoólicos das folhas de *M. piperita*, *M. rotundifolia* e *M. villosa* apresentaram similar capacidade de eliminação do radical ABTS, pois apresentaram uma estreita faixa de IC₅₀ de 0,03 a 0,04mg/mL, assim como os de caules (IC₅₀ = 0,07 a 0,09mg/mL) (Figura 2d). A atividade de eliminação do radical ABTS em espécies de *Mentha* também foi demonstrada por Arumugam et al. (2006) e Biswas, Chatli e Sahoo (2012). Nickavar, Alinaghi e Kamalinejad (2008) observaram elevada atividade de sequestro de radical ABTS em espécies do gênero *Mentha* em extrato hidroalcoólico, além disso, análogo aos resultados do presente estudo, os autores observaram um comportamento distinto nos resultados dos testes de eliminação dos radicais DPPH e ABTS. Enfatizando as distinções no comportamento entre os dois métodos, observou-se no presente trabalho uma menor correlação na eliminação de radicais ABTS em relação à correlação da eliminação de radicais DPPH e o teor de compostos fenólicos. Pode-se justificar que a atividade de eliminação do radical ABTS das espécies avaliadas, poderia ser devida, não só à composição de compostos fenólicos como também de outros compostos presentes na mistura que podem exercer um efeito sinérgico Nickavar, Alinaghi e Kamalinejad (2008).

No que se refere à capacidade sequestradora de radicais livres ABTS observou-se correlação negativa com os teores de compostos fenólicos totais e dihidroflavonoides (Figuras 3d e 3l). Entretanto, não foi observada dependência linear entre a atividade de eliminação do ABTS e o teor de flavonoides (Figura 3h). Conforme Ozgen et al. (2006), os radicais ABTS e DPPH utilizam o mesmo mecanismo de transferência eletrônica, revelando o poder redutor dos componentes que constituem os

extratos. No entanto, apesar de apresentarem o mesmo mecanismo de transferência de elétron, os compostos fenólicos podem ter diferentes cinéticas de oxidação conforme o ensaio utilizado e, conseqüentemente, eficiência distinta na capacidade de captura de radicais livres. De acordo com Mimica-Dukic e Bozin (2008), as espécies do gênero *Mentha* são ricas fontes de terpenoides e compostos fenólicos. Portanto, é provável que os componentes fenólicos presentes nas espécies estudadas, são pelo menos em parte, responsáveis pela atividade antioxidante e de eliminação de radicais livres. No entanto, outros compostos de natureza não fenólica poderiam explicar, em parte, a atividade antioxidante encontrado para estas plantas, corroborando assim para a baixa correlação da eliminação do radical ABTS com a quantificação dos fenólicos.

A capacidade dos extratos de reduzir os íons de Fe^{3+} a Fe^{2+} foi avaliada em comparação ao ácido ascórbico, segundo a metodologia de Oyaizu (1986). A capacidade de reduzir íons de ferro é geralmente associada com a presença de agentes redutores (DORMAN et al., 2003; PIN-DER-DUH, 1998), estes exercem uma ação antioxidante, quebrando a cadeia de radicais livres doando um átomo de hidrogênio (GORDON, 1990).

As Figuras 4a e 4b representam o comportamento dos extratos aquosos e hidroalcoólicos nesse ensaio, respectivamente. Não houve variações significativas no poder redutor dos extratos aquosos de caules e folhas das três espécies na faixa de concentração de 0,05 a 0,45mg/mL de extrato. Nessa faixa de concentração os extratos apresentaram atividade comparada ao ácido ascórbico que foi empregado como controle positivo. A similaridade na atividade do poder redutor aumentou a partir da

concentração 0,45mg/mL de todos os extratos, porém a atividade do ácido ascórbico foi mais elevada quando acima dessa concentração (Figura 4a). O mesmo comportamento foi observado para os extratos hidroalcoólicos em concentração acima de 0,45mg/mL (Figura 4b). No entanto, na faixa de concentração de 0,05 a 0,45mg/mL observou-se nítida distinção no poder redutor de extratos de caules e folhas das mentas. Tal atividade, nessa faixa de concentração, comparada ao ácido ascórbico também foi maior nos extratos hidroalcoólicos. Notou-se que os extratos hidroalcoólicos demonstraram maior poder redutor em comparação aos extratos aquosos, evidenciado pela leitura das menores absorvâncias.

Como demonstrado anteriormente nos demais ensaios de atividade antioxidante avaliados, os extratos hidroalcoólicos apresentaram maiores quantidades de compostos fenólicos, o que provavelmente contribuiu para a maior atividade redutora desses extratos de mentas. Estudos de atividade redutora de extratos etanólicos de menta realizados por Teixeira et al. (2012) corroboram com o presente resultado.

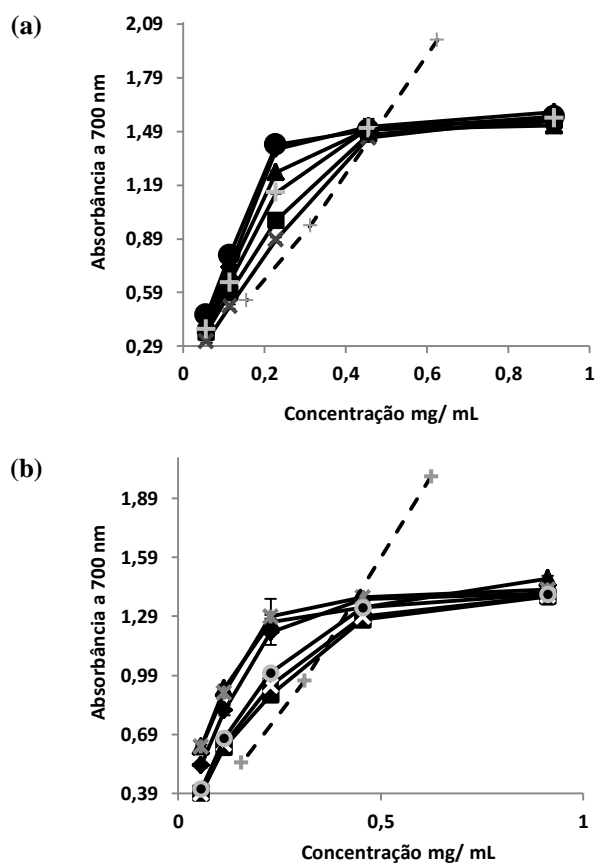


Figura 4 Poder redutor dos extratos (a) aquosos e (b) hidroalcoólicos das Folhas de *M. piperitha* (■); *M. villosa* (●); *M. rotundifolia* (●) e caules de *M. piperitha* (■); *M. villosa* (■); *M. rotundifolia* (■). Padrão ácido ascórbico (- - + - -)

4 CONCLUSÃO

Por meio deste trabalho, foi observado que os extratos de menta apresentam alto teor de compostos fenólicos totais, flavonoides e dihidroflavonoides, os quais têm fortes correlações com a atividade antioxidante dos extratos de caules e folhas de *M. piperita*, *M. villosa* e *M. rotundifolia*. Dentre as atividades antioxidantes, os extratos possuem alto poder quelante e redutor além de elevada atividade de eliminação de radicais livres (ABTS e DPPH).

Os extratos hidroalcoólicos das folhas das três mentas apresentam maiores quantidades de compostos fenólicos. Provavelmente em decorrência disso, apresentam maiores atividades antioxidantes, já que há correlação significativa entre as atividades antioxidantes e a quantificação dos compostos fenólicos, a exceção do ABTS para teores de dihidroflavonoides.

Os resultados desse estudo apontam a eficácia da atividade antioxidante *in vitro* avaliada por diferentes mecanismos de ação e reforçam a importância medicinal dessas espécies e de seus extratos como fontes de compostos antioxidantes.

Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and hydroalcoholic extracts of three species of genus *Mentha*

ABSTRACT

The objective was to evaluate the quantification of the phenolic compounds and total flavonoids and evaluate the antioxidant potential of aqueous and hydroalcoholic extracts of *M. piperita*, *M. villosa* and *M. rotundifolia*. The plant material was collected from the mother plants in Medicinal Garden of UFLA. Stems and leaves were used separately, oven dried and crushed into grinder. The aqueous extract (decoction) and hydroalcoholic in ethanol 70% (sonication) were prepared. It was performed quantification of total phenolics, flavonoids and dihydroflavonoides. To measure the antioxidant activity took place methods for total antioxidant activity by reducing ammonium molybdate, chelating power, reducing power, scavenging activity of free radicals (ABTS and DPPH). The contents of total phenolics and flavonoids, regardless of the species of mint and the solvent used were higher in leaves, hydroalcoholic extracts have higher levels of phenolic compounds than the aqueous extracts. The hydroalcoholic extracts of the leaves of the mint had higher total antioxidant activity, the chelating power of the extracts was found to be dependent on the solvent, organ and plant species. The elimination of activity ABTS and DPPH radicals is more efficient in hydroalcoholic extract, the species show high reducing power, only in hydroalcoholic observed the distinction between stems and leaves for this activity.

Keywords: Mint. Reducing power. Chelating power. Elimination of free radicals.

REFERÊNCIAS

AHMAD, N. et al. Free radical scavenging (DPPH) potential in nine mentha species. **Toxicology And Industrial Health**, Princeton, v. 1, n. 28, p. 83-89, Apr. 2012.

AHN, M. R. et al. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 4, p. 1383–1392, Mar. 2007.

AMERICAN INSTITUTE OF CANCER RESEARCH. **Food nutrition, and the prevention of cancer: a global perspective**. Washington: American Institute of Cancer Research, 1997. 517 p.

ARUMUGAM, P. et al. Antioxidant activity measured in different solvent fractions obtained from *Mentha spicata* Linn: an analysis by ABTS.+ decolorization assay. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Australia, v. 15, n. 1, p. 119-124, Sept. 2006.

BISWAS, A. K.; CHATLI, M. K.; SAHOO, J. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. **Food Chemistry**, London, v. 133, n. 2, p. 467-472, July 2012.

BOULANOUARA, B. et al. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. **Industrial Crops and Products**, London, v. 46, n. 1, p. 85-96, Jan. 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25–30, June 1995.

CHANDAN, K.; VISHWAKARMA, S.; KHUSHBU, R. C. J. S. Anticancer activity of *Mentha arvensis*. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, Oxford, v. 4, n. 5, p. 2465-2469, Jan. 2014.

CYBORAN, S. et al. Antioxidant potentials of polyphenolic extracts from leaves of trees and fruit bushes. **Current Topics in Biophysics**, New York, v. 34, n. 1, p. 15–21, Jan. 2011.

DAMIEN, D. H. J. et al. Antioxidant properties and Composition of aqueous extracts from mentha species, hybrids, varieties and cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 3, p. 4563-4569, Sept. 2003.

DORMAN, H. J. D. et al. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 16, p. 4563-4569, Mar. 2003.

DORMAN, H. J. D. et al. Phenolic profile and antioxidant evaluation of *Mentha x Piperita* L., (Peppermint) extracts. **Natural Product Communications**, Essex, v. 4, n. 4, p. 535-542, May 2009.

FARNAD, N.; HEIDARI, R.; ASLANIPOUR, B. Phenolic composition and comparison of antioxidant activity of alcoholic extracts of Peppermint (*Mentha piperita*). **Journal of Food Measurement and Characterization**, New York, v. 8, n. 2, p. 113-121, June 2014.

FATIHA, B. et al. Optimisation of solvent extraction of antioxidants (Phenolic Compounds) from algerian mint (*Mentha spicata* L.). **Pharmacognosy Communications**, London, v. 2, n. 4, p. 72-86, Oct./Nov. 2012.

FECKA, I.; TUREK, S. Determination of water-soluble polyphenolic compounds in commercial herbal teas from Lamiaceae: Peppermint, melissa, and sage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 26, p. 10908-10917, 2007.

GIÃO, M. et al. Determination of antioxidant capacity using the biological system bacteriophage P22/bacterium *Salmonella typhimurium*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 1, p. 22-25, Jan. 2009.

GORDON, M. H. The mechanism of antioxidant action in vitro. In: HUDSON, B. J. F. (Ed.). **Food antioxidants**. London: Elsevier Applied Science, 1990. p. 1–18.

JAYAPRAKASHA, G. K.; GIRENAVAR, B.; PATIL, B. S. Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and Sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 10, p. 4484-4494, Aug. 2008.

JOSEPH, J. A. et al. Reversal of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blue berry, spinach, or strawberry dietary supplementation. **Journal of Neuroscience**, Washington, v. 19, n. 18, p. 8114-8121, Sept. 1999.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 18, p. 451-458, Sept. 2007.

KRZYZANOWSKA, J. et al. Determination of polyphenols in *Mentha longifolia* and *M. piperita* field-grown and in vitro plant samples Using UPLC-TQ-MS. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 94, n. 1, p. 43-50, Mar. 2011.

LAHLOU, S. et al. Cardiovascular effects of the essential oil of *Mentha × Villosa* and its main constituent, piperitenone oxide, in normotensive anaesthetised rats: role of the autonomic nervous system. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 67, n. 7, p. 638–643, Oct. 2001.

LING, L. T. et al. Standardised *Mangifera indica* extract is an ideal antioxidant. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 4, p. 1154-1159, Apr. 2009.

LORENZO, D. et al. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 4, p. 519-524, Dec. 2002.

LV, J. et al. Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. **Food Chemistry**, London, v. 132, n. 3, p. 1442–1450, June 2012.

MCKAY, L. D.; BLUMBERG, B. J. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). **Phytotherapy Research**, London, v. 20, n. 8, p. 619–633, Aug. 2006.

MIGUEL, M. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. **Molecules**, Washington, v. 15, n. 12, p. 9252-9287, Dec. 2010.

MIGUEL, M. et al. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acetylcholine sterase activities of eleven extracts of moroccan plants. **Fresenius Environmental Bulletin**, Washington, v. 6, n. 24, p. 1-14, Feb. 2014.

MIMICA-DUKIC, N.; BOZIN, B. *Mentha* L. species (Lamiaceae) as promising sources of bioactive secondary metabolites. **Current Pharmaceutical Design**, San Francisco, v. 14, n. 29, p. 3141-3150, Feb. 2008.

MOHSEN, S. M.; AMMAR, A. S. M. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. **Food Chemistry**, London, v. 112, n. 3, p. 595-598, Feb. 2009.

MORAIS, S. M. et al. Correlação entre as atividades antiradical, antiacetilcolinesterase e teor de fenóis totais de extratos de plantas medicinais de farmácias vivas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 15, n. 4, p. 575-582, mar. 2013.

NICKAVAR, B.; ALINAGHI, A.; KAMALINEJAD, M. Evaluation of the antioxidant properties of five mentha species. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, Irã, v. 3, n. 7, p. 203-209, May 2008.

OH, J. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. **Food Control**, London, v. 31, n. 2, p. 263-620, June 2013.

OYAIZU, M. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. **Japanese Journal of Nutrition**, Tokyo, v. 44, n. 6, p. 307–315, May 1986.

OZGEN, U. et al. Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae (Labiatae) species. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 44, n. 2, p. 107-112, Oct. 2006.

PIN-DER-DUH, X. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linne): its scavenging effect on free-radical and active oxygen. **Journal of the American oil Chemists Society**, Chicago, v. 75, n. 4, p. 455–461, Oct. 1998.

POPOVA, M.; BANKOVA, V.; BUTOVSKA, D. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochemistry Analysis**, Chichester, v. 15, n. 4, p. 235–240, July/Aug. 2004.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analysis Biochemistry**, Oxford, v. 269, n. 2, p. 337-341, June 1999.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 26, n. 10, p. 1231-1237, May 1999.

RIACHI, L. G.; MARIA, C. A. B. de. Peppermint antioxidants revisited. **Food Chemistry**, London, v. 176, n. 1, p. 72-81, June 2015.

RIAHI, L. et al. Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. **Industrial Crops And Products**, London, v. 49, n. 5, p. 883-889, Aug. 2013.

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. **Food Research International**, Barking, v. 32, n. 6, p. 407–412, July 1999.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, Califórnia, v. 28, n. 1, p. 49–55, Mar. 1977.

SOUSA, P. J. C. et al. Effects of piperitenone oxide on the intestinal smooth muscle of the guinea pig. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 6, p. 787-791, June 1997.

STANKOVIC, M. S. et al. Antioxidant activity, total phenolic content and flavonoid contents of different plant parts of *Teucrium polium* L. subsp. *polium*. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, Warszawa, v. 81, n. 2, p. 117-122, June 2012.

TEIXEIRA, B. et al. European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. **Industrial Crops And Products**, London, v. 36, n. 1, p. 81-87, Mar. 2012.

TRIPATHI, A. K. et al. Piperitenone oxide as toxic. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, Jordan, v. 4, n.1, p. 47-54, Dec. 2010.

TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y. S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 4, p. 835-846, Aug. 2006.