

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Maryah Christina dos Santos Senna Nilo

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA HORTELÃ  
PIMENTA (*MENTHA PIPERITA*)**

Rio de Janeiro

2015

Maryah Christina dos Santos Senna Nilo

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA HORTELÃ  
PIMENTA (*MENTHA PIPERITA*)**

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós  
Graduação em Alimentos e Nutrição da  
Universidade Federal do Estado do Rio de  
Janeiro, com requisito parcial para obtenção  
do título de Mestre em Ciência dos  
Alimentos.

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Carlos Alberto Bastos de Maria (UNIRIO)

Coorientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Geraldo Ceni Coelho (UFFS)

Rio de Janeiro

2015

Maryah Christina dos Santos Senna Nilo

**ESTUDO DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE SACHÊS DA HORTELÃ  
PIMENTA (*MENTHA PIPERITA*) COMERCIALIZADOS NO RIO DE  
JANEIRO**

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós  
Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade  
Federal do Estado do Rio de Janeiro, com requisito  
parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência  
dos Alimentos.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Professor Doutor Carlos Alberto Bastos de Maria  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

---

Professora Doutora Claudia Cardoso Netto  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

---

Professora Doutor Danielle Cristina Machado Costa  
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Nilo, Maryah Christina dos Santos Senna

Composição química e atividade antioxidante da hortelã pimenta (*mentha piperita*)

65f.; 30 cm

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

1. Hortelã pimenta. 2. óleo essencial. 3. Tisanas. 4. Antioxidantes.

Dedico este trabalho à minha mãe, minha avó e a Tita por todo apoio, incentivo e principalmente amor dedicados a mim.

## AGRADECIMENTOS

À minha família por todo amor, força e paciência dedicados a mim ao longo da vida.

Para as minhas amigas Monique e Mayra que me deram força, apoio, amor e principalmente incentivo para que eu chegasse até aqui.

Para meu namorado Ricardo por todo amor, carinho e compreensão.

Para meu amigo Carlos por toda amizade e paciência de ter escutado várias vezes a minha apresentação.

Ao meu orientador, Carlos Alberto Bastos De Maria, por toda dedicação, paciência, compreensão, e ajuda mesmo nas circunstâncias mais difíceis.

Ao Prof. Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira por toda a ajuda durante o trabalho.

A todos os professores da Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição e aos professores da Escola de Nutrição da UNIRIO que fizeram parte da minha formação.

Aos profs. Alexandre Sousa da Silva e Stevan Dutt-Ross do Departamento de Matemática e Estatística.

À todos os alunos do Laboratório.

À todos os colegas do mestrado.

À todos os funcionários da UNIRIO.

À FAPERJ pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Foi realizada a extração de óleo essencial de sachês de hortelã pimenta comercializados na cidade do Rio de Janeiro, por hidrodestilação no aparelho de *Clevenger*. Em seguida, foi identificada a composição química e a qualidade odorífera desse óleo essencial. Foram realizadas 3 análises para determinar o poder antioxidante dos óleos essenciais e das tisanas dos sachês de hortelã pimenta, o DPPH, o teor de fenólicos totais e a estabilidade oxidativa do óleo de soja. A média do rendimento de OE extraído das amostras analisadas foi de 0,6%, e o teor de impurezas de 7%. Os OE's analisados por CG/EM tiveram um total de 45 compostos identificados, dentre eles o mentol, a mentona, o mentofurano, o acetato de mentila, limoneno e a pulegona que foram encontrados em todas as marcas analisadas. Na água condensada verificou-se uma distribuição composicional parecida com a do OE, com 11 compostos a menos, contendo um total de 34, tendo o mentol e a mentona como compostos majoritários, com valores semelhantes ao do OE, caracterizando que existe uma quantidade de óleo residual no extrato aquoso. Cerca de 51 % dos compostos identificados por CG/EM também foram detectados por CG/O e uma parcela dos compostos voláteis apresentou odor similar a menta, tais quais: eucaliptol, linalol, carveol, mentona, pirocarvona, acetato de mentila, epiglobulol e cubenol. Na análise de DPPH se considerarmos todas as marcas, temos uma média de 19,75 mg ml<sup>-1</sup> para as tisanas e 41,84 mg ml<sup>-1</sup> para os OE's, ou seja, a atividade antioxidante encontrada nas tisanas é duas vezes maior que a encontrada nos OE's. O teor de fenólicos totais das tisanas de todas as marcas, é mais que o dobro do encontrado nos OE's em que as tisanas obtiveram uma média de 2,38±0,39 mg g<sup>-1</sup> e os óleos de 0,98±0,11 mg g<sup>-1</sup>. Na análise de autooxidação de óleo de soja, foram consideradas 720 observações de absorvância divididas em dois experimentos independentes com 360 observações cada. Foram realizadas observações em 4 dias de leitura não consecutivos (0, 5, 10, 15 dias), em triplicata, para cada uma das 6 combinações nas 5 marcas diferentes. É possível observar uma tendência a partir do segundo dia de leitura (quinto dia), na qual a estabilidade oxidativa do óleo de soja é influenciada positivamente tanto pela inclusão da tisana como também pela fração OE. Nesse experimento o poder antioxidante da tisana foi significativamente (teste de Wilcoxon e teste de Kruskal-Wallis) maior do que aquele do OE. Ao se comparar todos os métodos usados nesse estudo para avaliar o poder antioxidante das frações tisana e

OE da hortelã pimenta será possível observar uma tendência comum, na qual as primeiras tem maior atividade antioxidante do que as últimas.

**Palavras-chaves:** Hortelã pimenta, OE, tisanas, antioxidantes.



## ABSTRACT

Essential oil of peppermint sachets purchased in the city of Rio de Janeiro was obtained via hydrodistillation in Clevenger apparatus. The chemical composition was analysed in essential oil and condensed water. Three different analytical techniques (DPPH, total phenolic content and oxidative stability of soybean oil) were used in order to determine the antioxidant power of essential oils and tisanes from the peppermint sachets. The average yield of essential oil was 0.6% and the impurity average content was 7%. A total of 45 compounds were identified by GC/MS among them, menthol, menthone, menthofuran, methyl acetate, limonene and pulegone which were found in all the analyzed brands. Condensed water presented 34 compounds, with the menthol and menthone as major compounds with similar values to the essential oil, characterizing that there is an amount of residual volatile compounds in the aqueous extract. About 51% of the compounds identified by GC/MS were also detected by GC/O and a parcel of volatiles showed a similar odor of mint, such as eucalyptol, linalool, carveol, menthone, pirocarvone, menthyl acetate, epiglobulol and cubenol. In DPPH analysis, there were mean values of 19.75 mg ml<sup>-1</sup> for tisanes and 41.84 mg ml<sup>-1</sup> for essential oils. The antioxidant activity in teas was twice larger than those found in essential oils. The total phenolic content of tisanes ( $2.38 \pm 0.39$  mg g<sup>-1</sup>) was more than twice that found in essential oils ( $0.98 \pm 0.11$  mg g<sup>-1</sup>). In regard to soybean oil auto-oxidation analysis, absorbance was obtained in 2 independent experiments each with 360 observations. Observations were made on 4 no consecutive days (0, 5, 10, 15 days) in triplicate for each of the 6 combinations in 5 different brands. It is possible to observe a trend from the second day of reading (fifth day), in which the oxidative stability of soybean oil is positively affected by the addition not only of tisane but also essential oil. On the other hand, antioxidant power of tisane was significantly (Wilcoxon and Kruskal-Wallis test) higher than that from essential oil. Comparing all methods used in this study to evaluate the antioxidant power it will be possible to observe a common trend in which tisane have a higher antioxidant activity than essential oil.

**Keywords:** Peppermint, essential oil, tisane, antioxidant

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Estrutura química das diferentes subclasses de flavonoides _____	11
<b>Figura 2.</b> Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos _____	13
<b>Figura 3.</b> Alguns dos compostos mais importantes do OE de hortelã pimenta _____	18
<b>Figura 4.</b> Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante _____	23
<b>Figura 5.</b> Aparelho de <i>Clevenger</i> durante a extração do OE _____	33
<b>Figura 6.</b> Esquema das Etapas da Auto-oxidação Lipídica _____	38
<b>Figura 7.</b> Histograma e <i>Boxplot</i> Considerando Todas as Absorvâncias da Análise _____	40
<b>Figura 8.</b> Absorvância por Replicata _____	41
<b>Figura 9.</b> Absorvâncias por Marca _____	42
<b>Figura 10.</b> Absorvância por Leitura _____	43
<b>Figura 11.</b> Absorvância por Marca _____	44
<b>Figura 12.</b> Absorvância por Combinação _____	45

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Os 18 principais OE's no mercado mundial_____	16
<b>Tabela 2.</b> Curva padrão utilizada na análise da atividade antioxidante._____	23
<b>Tabela 3.</b> Combinações de 1 à 6 utilizadas na análise_____	25
<b>Tabela 4.</b> Médias e desvio padrão das análises de pH e mV de tisanas de todas as marcas_____	26
<b>Tabela 5.</b> Rendimento do OE de hortelã pimenta_____	27
<b>Tabela 6.</b> Contagem de Impurezas nos sachês de Hortelã Pimenta_____	27
<b>Tabela 7.</b> Composição dos Óleos Essenciais das 5 Marcas analisadas_____	29
<b>Tabela 8.</b> Porcentagem dos Compostos de Maior Importância no OE de Hortelã Pimenta_____	30
<b>Tabela 9.</b> Composição das Águas Condensadas da Extração dos OE's das 5 Marcas Analisadas_____	32
<b>Tabela 10.</b> Compostos de percepção odorífera encontrados por CG/O do OE das 5 Marcas analisadas_____	34
<b>Tabela 11.</b> Valores de IC <sup>50</sup> dos OE's e das Tisanas das 5 Marcas Analisadas_____	36
<b>Tabela 12.</b> Teor de Compostos Fenólicos Totais dos OE's e Tisanas das 5 Marcas Analisadas_____	37
<b>Tabela 13.</b> Comparação de Combinações dois a dois_____	46
<b>Tabela 14.</b> Comparação de Combinações dois a dois por Leitura_____	47

## LISTA DE ABREVIATURAS

BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
CAT	Catalase
CG/EM	Cromatografia Gasosa com Espectrômetro de Massas
CG/O	Cromatografia Gasosa acoplada à Olfatometria
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
EROs	Espécies Reativas do Oxigênio
GP	Galato de propila
GPx	Glutathione peroxidase
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
mV	Condutividade elétrica
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Radical superóxido
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Oxigênio singlete
OE's	Óleos essenciais
OH <sup>-</sup>	Radical hidroxila
pH	Potencial Hidrogeniônico
SOD	Superóxido Desmutase
TBHQ	Terbutilhidroquinona

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	2
2.1. Consumo mundial de chá.....	2
2.2. Chás utilizados como fitoterápicos.....	4
2.3. Atividade Antioxidante dos Chás.....	6
2.3.1. Estresse Oxidativo.....	6
2.3.2. Antioxidantes Naturais e sintéticos.....	7
2.3.3. Polifenóis como compostos bioativos.....	9
2.3.4. Antioxidantes no chá de hortelã pimenta.....	14
2.4. OE.....	15
2.4.1. Composição do OE de Hortelã Pimenta.....	16
2.4.2. Atividade Antioxidante do OE de Hortelã Pimenta.....	19
3. OBJETIVOS.....	20
3.1. Objetivo Geral .....	20
3.2. Objetivos Específicos .....	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	21
4.1. Amostras.....	21
4.2. Obtenções da Fração Volátil.....	21
4.3. Identificação da composição química.....	21
4.3.1. CG/EM.....	21
4.3.2. CG/O.....	22
4.3.3. Análise de pH e mV.....	22
4.3.4. Rendimento do OE de hortelã pimenta.....	22
4.3.5. Contagem de Impurezas.....	22
4.4. Análises do Poder Antioxidante.....	22
4.4.1. Atividade Antioxidante Pela Captura do Radical Livre DPPH.....	22
4.4.2. Teor de Compostos Fenólicos Totais.....	24
4.4.3. Avaliação da Estabilidade Oxidativa do Óleo de Soja.....	24
4.5. Análise Estatística.....	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5.1 Composição Química.....	26
5.1.1 Análise de pH e mV das tisanas de hortelã pimenta.....	26
5.1.2 Rendimento do OE de hortelã pimenta.....	26
5.1.3 Contagem de impurezas.....	27
5.2 Composição Química do OE de Hortelã Pimenta.....	28
5.2.1 CG/EM.....	28
5.2.2 CG/O.....	33
5.3 Poder Antioxidante dos OE's e das Tisanas dos Saches das 5 Marcas Analisadas.....	35
5.3.1 DPPH.....	35
5.3.2 Teor de Compostos Fenólicos Totais.....	36
5.3.3 Avaliação da Estabilidade Oxidativa do Óleo de Soja.....	38
6. CONCLUSÃO.....	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Mentha*, família *Lamiaceae*, é um dos mais complexos do reino vegetal devido às 19 espécies e os 13 híbridos resultantes do cruzamento espontâneo e seleção das espécies, os quais podem sumariamente distinguir-se em dois grupos: mentas em espiga, com flores dispostas em uma espiga terminal não folhosa, e mentas rasteiras, com flores dispostas em verticilos, escalonados na axila das folhas pecioladas. (SCHWEITZER et. al, 1986).

A menta (*Mentha piperita* L.), conhecida no Brasil como hortelã, hortelã-pimenta e menta-inglesa, é uma planta herbácea originária da Europa e da Ásia, com grande utilização medicinal. É uma erva vivaz ou perene, com caule ramificado, contendo folhas opostas pecioladas ovais e com margem serrilhada, apresentando cor verde mais escura na face superior da folha e mais pálida na inferior (GRISI, 2006). A espécie também é fonte de um dos mais populares óleos essenciais (OE's). A produção mundial anual de OE's de trinta espécies aromáticas é estimada entre 110.000 e 120.000 toneladas (KHOTARI, 2005), e, desta quantidade, 22.200 toneladas vêm de espécies de *Mentha*: *M. arvensis* (16.000), *M. piperita* (4.000), *M. spicata* (2.000) e outras (200) (SANT SANGANERIA, 2005).

O Brasil tem lugar de destaque na produção de OE, ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os 4 grandes produtores mundiais. A posição do Brasil deve-se aos OE's de cítricos, que são subprodutos da indústria de sucos. No passado, o país teve destaque como exportador de OE de pau-rosa, sassafrás e menta. Nos dois últimos casos, passou à condição de importador. (BIZZO, 2009)

O OE de *Mentha piperita* é considerado importante, pelo fato de ser usado nas indústrias farmacêuticas, de bebidas alcoólicas, gomas de mascar e cosméticas. Suas folhas são usadas também como aromatizantes de alimentos, chás e na medicina popular (FAHN, 1979, LAWRENCE, 1985). O uso do OE desta planta também está associado a uma série de efeitos fisiológicos de interesse médico, tais como: efeitos espasmolíticos, carminativos, estomáquicos, anti-helmínticos, antimicrobianos e antiprurido (GRUENWALD ET AL., 2000; GOERG & SPILKER, 2003). Já o extrato aquoso das folhas dessa planta está entre os ingredientes mais populares para preparação de chás para uso medicinal (MCKAY & BLUMBERG, 2006). Na Alemanha, a folha da hortelã pimenta é licenciada pelos órgãos de saúde para uso como chá medicinal para tratar

dispepsia, enquanto seu OE é usado para tratar inflamação de mucosas do trato respiratório (BLUMENTHAL et al., 1998).

Embora a hortelã pimenta esteja entre os mais populares ingredientes de chás (MCKAY & BLUMBERG, 2006), inclusive no Brasil, pouco se conhece sobre a qualidade dos sachês de hortelã pimenta comercializados no Brasil, já que essa planta não é cultivada aqui e, portanto, a matéria-prima é importada. O uso da análise taxonômica da planta para se atestar a autenticidade é inviável, já que o material se encontra pulverizado. Dessa forma, a análise da composição química do OE e do poder antioxidante do OE e da tisana é uma forma complementar de se avaliar a qualidade dos sachês de hortelã pimenta, já que sua composição é bem conhecida. (DUBAND et al., 1992; ORAV & KANN, 2001)

Uma parcela considerável da população mundial usa correntemente algum tipo de erva para atender as suas necessidades primárias de saúde. Essa terapia complementar geralmente envolve o uso de extratos de alguma parte da planta na forma de soluções aquosas. A hortelã pimenta está entre as plantas mais populares para uso na forma de chá. Além de ter uma série de efeitos fisiológicos benéficos, a bebida feita a partir de suas folhas produz um chá de sabor e aroma agradável, sendo apreciado pelos consumidores. (BLUMENTHAL et al., 1998).

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Consumo mundial de chá**

O chá é uma das bebidas mais populares e antigas do mundo (YAMANE; CHANDRAVANSI; WONDIMU, 2008). Primeiramente, foi preparado a partir das folhas da planta e utilizado pelos chineses como medicamento e mais tarde, como bebida. Seu consumo tem se expandido ao longo dos últimos 5.000 anos, ocupando cerca de 2,7 milhões de hectares de terras cultiváveis no mundo. Apresenta mais de 3.000 variedades de espécies disponíveis, muitas das quais com características únicas, como alto teor de cafeína (MONDAL et al., 2004).

Para além da infusão (sobre as folhas da planta deita-se água muito quente, deixando repousar durante alguns minutos), os chás podem ser preparados por decocção (sobre as folhas da planta deita-se água fria, levando ao fogo) ou cozimento (na água em

ebulição deitam-se as partes das plantas cortadas, mantendo em ebulição). A infusão é indicada quando o chá é preparado a partir de partes tenras da planta (folhas, botões florais e flores), enquanto a decocção é mais usada para raízes, caules e frutos secos. Tanto as infusões como as decocções são administradas por via oral e tópica (epidérmica e inalável) (CARVALHO, 2010).

Segundo Weisburger (1997), a história do chá como bebida data do ano de 2.700 a.C. na China. Da China a tradição foi levada para o Japão no século VI. Após isto, e por um longo período, o chá foi consumido apenas pela sociedade privilegiada, tornando-se popular somente 700 anos depois. O consumo de chá se difundiu na Ásia e das colônias asiáticas para suas metrópoles, de onde, em meados do século XVII, os ingleses divulgaram e popularizaram a bebida para o mundo. Desde então a produção e o consumo de chás evoluiu muito.

O consumo de chá no Brasil está relacionado a práticas curativas herdadas dos índios, negros e europeus. No fim do século XX, o consumo da bebida no país cresceu e se modernizou, surgindo inclusive uma legislação específica, porém ainda convivendo com o comércio de espécies medicinais em feiras e o plantio em quintais para o consumo familiar (MORAES-DE-SOUZA, 2007).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os chás são definidos como “produtos constituídos de partes vegetais, inteiras, fragmentadas ou moídas, obtidas por processos tecnológicos adequados a cada espécie, utilizados exclusivamente na preparação de bebidas alimentícias por infusão ou decocção em água potável, não podendo ter finalidades farmacoterapêuticas” (BRASIL, 2005).

Nesta portaria está incluída ainda uma lista de espécies para as quais se admite a aplicação dos requisitos citados acima e que podem ser objeto de solicitação imediata de registro. No entanto, segundo alguns autores, a inclusão de certas plantas em tal listagem é polêmica. Para Melo *et al.* (2004) existe uma contradição em classificar uma planta medicinal como um simples produto alimentício, pois para a maioria das espécies comercializadas como tal, há comprovação de atividade terapêutica e para algumas há ainda contraindicações.

Os chás encontram-se disponíveis no mercado em diferentes formulações (sacos, folhas, raízes, granulados, pós, líquidos) que podem ser preparadas por infusão ou solubilização, ou estarem já prontas para o consumo. Os sacos de chá, onde as folhas são embaladas em um saco de papel para ser feita a infusão, é fácil e conveniente, o que os torna bastante populares (MORAIS, 2011). No caso do chá a granel, as folhas são



embaladas num recipiente, onde as porções devem ser medidas, individualmente, pelo consumidor para uso num copo, caneca ou bule. Assim, o consumidor pode preparar chás com sabores de intensidade variável, sendo, no entanto, um processo de preparação menos prático (CARVALHO, 2010). Independente das formulações, o sabor e a quantidade de folhas parecem ser influenciados pelo clima, solo, altitude, época e modo de colheita. Além dessas influências, a variedade, o ambiente de crescimento, as condições de processamento e o tamanho da folha influenciam a composição desta, bem como a composição das infusões finais obtidas. O método de preparação da infusão, no momento em que vai ser consumida, a quantidade de folhas e água usada, o tempo de infusão e a agitação é também determinante na quantidade de componentes do chá. O valor desta bebida ultrapassa o seu papel social positivo, parecendo ser dotada de ação fisiológica benéfica (MORAIS, 2011).

O uso da palavra chá é originalmente utilizado para a infusão da *Camellia sinensis* (chá verde). A classificação é feita de acordo com o grau de fermentação a que a planta é submetida antes de estar disponível para o consumo. O maior consumo é da forma fermentada ou chá preto. No entanto, a forma não fermentada ou chá verde e a forma semifermentada ou chá *oolong* são muito populares em alguns países como China e Japão, onde as folhas verdes também são usadas como hortaliças. A forma descafeinada é obtida pela mistura do chá preto ou verde com um solvente orgânico, que dissolve a cafeína, tornando possível sua remoção. No entanto, popularmente, considera-se a infusão de todas as espécies terapêuticas como chá (MONDAL, 2004).

## **2.2 Chás utilizados como fitoterápicos**

Do ponto de vista etimológico, a Fitoterapia pode ser definida como “terapêutica à base de plantas”, ou seja, a ciência que estuda a utilização dos produtos de origem vegetal com finalidade terapêutica (CAÑIGUERAL, 2006).

Na antiguidade as civilizações mais primitivas se aperceberam das potencialidades do uso das plantas, tanto na alimentação como na saúde. O emprego das plantas medicinais no tratamento de doenças era inicialmente baseado no seu potencial curativo quando experimentadas no combate à doença. Todo um saber empírico foi sendo inicialmente transmitido oralmente de uma geração para outra, para depois, com o aparecimento da escrita, passar a ser compilado e guardado, acompanhando a evolução

do Homem através dos tempos. Foi esta a primeira “Fitoterapia” que o homem usou (CUNHA et al., 2003).

Hoje em dia, o acréscimo das exigências relativas aos medicamentos alopáticos, aliado ao aumento dos seus efeitos secundários, despertou o interesse pela Fitoterapia. Deste modo, os medicamentos à base de plantas podem ser usados como auxiliares nos cuidados primários de saúde e/ou como complemento terapêutico. Para tal, deverá ser garantida a sua qualidade, eficácia e segurança, apoiadas em ensaios farmacológicos e clínicos (CUNHA et al., 2003).

Segundo Alonso (1998), a utilização de fitoterápicos, nos países desenvolvidos e nos países em desenvolvimento tem razões diferentes. Nos países considerados desenvolvidos a utilização dos fitoterápicos é ocasionada por uma resposta da população aos efeitos agressivos e iatrogênicos dos medicamentos de síntese, e nos países em desenvolvimento o uso das plantas medicinais é um recurso tradicional enraizado culturalmente na população.

O arsenal terapêutico com plantas medicinais tem, nas últimas décadas, tido uma presença cada vez maior. Na Alemanha 66% da população utiliza preparados da fitoterapia para combater resfriados. Na França, o mercado de produtos fitoterápicos é liderado para tratamento de transtornos circulatorios, seguidos de digestivos e antitussígenos (CAÑIGUERAL, 2003).

As plantas medicinais podem ser processadas e administradas de diversas formas, tais como, por exemplo, xaropes, infusões, óleos essenciais, pomadas, bálsamos, comprimidos ou cápsulas, sendo indicadas para ajudar a combater patologias crônicas e agudas, como, por exemplo, doenças cardiovasculares, inflamações ou problemas gástricos. Estas plantas são ricas em vários compostos, tais como OE's, flavonóides, taninos, etc., sendo que muitos deles apresentam propriedades antioxidantes (BENZIE & WACHTEL, 2011). Assim, apesar das infusões de plantas medicinais não terem um valor nutricional apreciável, estas podem constituir uma importante fonte de compostos bioativos na dieta humana (ALARCON et al., 2008). Para além das propriedades antioxidantes, diversos estudos têm identificado, igualmente, em algumas destas infusões, propriedades antimutagênicas, antiinflamatórias, antivirais, antibacterianas e antitumorais, levando a supor que o consumo destas infusões possa, de fato, contribuir para a promoção da saúde (DE MEJIA et al., 2010).

A OMS estima que 80% da população em países em vias de desenvolvimento utilize a medicina tradicional à base de plantas como fonte primária para tratar e controlar diferentes patologias (TAMAYO, 2006). Contudo, há que ter em conta que as plantas medicinais não podem ser utilizadas para o tratamento de todas as patologias e em qualquer paciente, e que não estão isentas de efeitos secundários, nem de contraindicações e interações (FERREIRA, 2010).

### **2.3. Atividade Antioxidante dos Chás**

#### **2.3.1. Estresse Oxidativo**

Radicais livres podem ser definidos como moléculas ou átomos que possuem um elétron desemparelhado na última camada, ocupando um único orbital atômico ou molecular (HALLIWEL & GUTTERIDGE, 2000). Entre os diferentes tipos de radicais livres estão principalmente os metais de transição como o ferro, cobre e manganês, e as espécies derivadas do oxigênio. São denominados, em geral, de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), quando são derivados do oxigênio (SALDANHA, 2005). Os EROs podem também referir-se a espécies que não são derivadas de radicais livres, e sim algumas moléculas derivadas de  $O_2$  capazes de gerar radical livre, como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). As principais EROs são as seguintes: radical superóxido ( $O_2^-$ ); peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ); radical hidroxila (OH) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) (FERRERA & MATSUBARA, 1997).

As EROs são formadas por reações de óxido-redução, após cederem ou receberem um elétron de outras moléculas instáveis, e são consequências diretas do metabolismo do oxigênio e da exposição da célula a xenobióticos (micotoxinas, radiação ionizante, pesticidas, etc.), que provocam a redução incompleta do oxigênio (DROGE, 2002).

Além disso, os radicais livres oxigenados podem ser convertidos a outras espécies reativas não radicais, como peróxido de hidrogênio, ácido hipoclorídrico e peroxinitrito (FERREIRA; ABREU, 2007) Assim as EROs podem ser espécies radicais e não radicais (FANG et al., 2003).

Essas formas de oxigênio são muito prejudiciais aos constituintes celulares, incluindo o DNA, os lipídios e as proteínas. Os radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio como o peróxido de hidrogênio são naturalmente e continuamente produzidos. Porém, os organismos desenvolvem sistemas de defesa antioxidantes para a

proteção e também sistemas de reparação, limitando assim o acúmulo de moléculas alteradas pela oxidação (HALLIWEL & GUTTERIDGE, 2000).

A produção de espécies reativas (em pequenas quantidades) nos organismos vivos decorre do metabolismo celular, normalmente sob a forma de EROs ou ERNs (espécies reativas do nitrogênio). Uma vez produzidos, muitos dos radicais livres são neutralizados pelas defesas celulares antioxidantes (enzimas e moléculas não enzimáticas). A produção excessiva de espécies reativas ou a diminuição dos níveis de antioxidantes conduzem ao estresse oxidativo, ou seja, a alteração do equilíbrio oxidante/antioxidante em favor do primeiro tem sido implicada na etiologia de várias doenças e no envelhecimento (ALMEIDA, 2009).

Normalmente os radicais livres são espécies instáveis, muito reativas e que, por isso, têm um tempo de vida muito curto, reagindo e causando lesões em várias estruturas e componentes celulares. As lesões que causam nestes importantes componentes celulares tornam estes radicais tóxicos para o organismo e podem estar na base do aparecimento de determinadas patologias como, por exemplo, câncer, aterosclerose, diabetes, cirrose ou as doenças neurodegenerativas (ARIAS, 2005; FERREIRA; ABREU, 2007; MATSUMOTO, 2008).

O efeito deletério do estresse oxidativo varia consideravelmente de um ser vivo para o outro, de acordo com a idade, o estado fisiológico e a dieta. Hábitos de vida inapropriados, tais como a ingestão de álcool, fumo e dieta inadequada; condições ambientais impróprias, tais como a exposição à radiação não ionizante UV e ondas curtas; poluição; alta umidade relativa e temperatura elevada; estados psicológicos que provocam estresse emocional; envelhecimento e o exercício realizado de forma extrema, também estão associados ao estresse oxidativo (VANCINI et al., 2005).

### **2.3.2. Antioxidantes Naturais e sintéticos**

Os antioxidantes são um grupo de substâncias que, quando presentes em concentrações ideais em relação aos substratos oxidáveis, reagem com os radicais livres impedindo ou diminuindo o estresse oxidativo. Podem ser divididas em sintéticos, substâncias utilizadas na indústria alimentícia, destacando-se o butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), galato de propila (GP), tercbutilhidroquinona (TBHQ) ou naturais tais como:  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),  $\beta$ -caroteno, ascorbato (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonoides e ácidos fenólicos) os quais são os

responsáveis pela remoção dessas espécies reativas (SOUSA et al., 2007). Então, a capacidade de defesa do sistema antioxidante depende de uma dieta adequada em micronutrientes e outras substâncias bioativas (vitaminas, minerais, aminoácidos, flavonóides) e a produção endógena de antioxidantes (CÓRDOVA et al., 2000).

As defesas antioxidantes do organismo são compostas por componentes enzimáticos e moleculares, sendo classificados em antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (SERAFINI, 2006).

Os antioxidantes enzimáticos são responsáveis pela defesa primária do organismo contra as EROs, impedindo a sua formação e interação com alvos celulares. Estas enzimas permitem manter níveis celulares baixos de  $^1\text{O}_2^-$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , evitando assim a formação de OH. O sistema de defesa antioxidante enzimático é constituído por várias enzimas, sendo as principais a superóxido desmutase (SOD), catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx) (MATSUMOTO, 2008).

Os antioxidantes provenientes da dieta são bastante variados e incluem, como grupos majoritários, os polifenóis e os carotenóides. Estes têm funções diferentes e são produzidos pelas plantas para proteger as células contra danos produzidos por herbivoria, por patógenos e pela radiação ultravioleta. Quando ingeridos protegem também o organismo contra o estresse oxidativo (Benzie *et al.*, 2011). Muitos desses compostos (ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides, polifenóis) são capazes de neutralizar as EROs. (FINLEY et al, 2011)

As principais vitaminas com ação antioxidante são a E, a C e o  $\beta$  - caroteno ou provitamina A. A vitamina E é composta por quatro homólogos lipossolúveis;  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferóis. O homólogo mais ativo e predominante é o  $\alpha$ -tocoferol, sendo responsável pela proteção da membrana celular à oxidação por parte das EROs e radicais lipídicos, produzidos na peroxidação lipídica. Esta vitamina é o antioxidante lipossolúvel mais abundante (SERAFINI, 2006; LIMÓN-PACHECO & GONSEBATT, 2009).

A vitamina C, ou ácido ascórbico, é uma vitamina antioxidante hidrossolúvel. Esta vitamina, além de estar envolvida na desativação direta de EROs está, igualmente, envolvida na regeneração da forma ativa da vitamina E, de flavonóides e da glutathiona, de modo que estes possam continuar a exercer as suas funções antioxidantes (MATSUMOTO, 2008; LIMÓN-PACHECO & GONSEBATT, 2009).

Os carotenóides apresentam uma cadeia de carbono com ligações duplas, que os tornam compostos com potencial antioxidante, uma vez que as suas moléculas são

capazes de receber elétrons de espécies reativas, neutralizando-as. Os principais carotenóides são o  $\beta$ -caroteno, luteína,  $\alpha$ -caroteno, zeaxantina, criptoxantina e licopeno. O  $\beta$ -caroteno é o carotenóide mais abundante nos alimentos, sendo um precursor da vitamina A e um excelente quelante do oxigênio singlete (SERAFINI, 2006; MATSUMOTO, 2008; AL-GUBORY et al, 2010).

Os oligoelementos são muito importantes, uma vez que integram o centro ativo das enzimas antioxidantes e atuam como cofatores na regulação destas mesmas enzimas, sendo assim considerados antioxidantes indiretos. Estes elementos apenas são necessários ao organismo em quantidades mínimas para um metabolismo, desenvolvimento e fisiologia normal. Os principais oligoelementos com ação antioxidante indireta são o cobre, o zinco, o magnésio e o selênio. Este último é particularmente importante, uma vez que protege os lipídios celulares de danos oxidativos, já que é cofator da enzima glutatona peroxidase (LIMÓN-PACHECO & GONSEBATT, 2009).

Como antioxidantes, os polifenóis podem proteger as células contra os danos oxidativos e, portanto, limitar o risco de várias doenças degenerativas associadas ao estresse oxidativo, como as doenças cardiovasculares e o câncer (SERAFINI, 2006). Os polifenóis presentes nos alimentos podem ajudar a limitar esses danos através de vários mecanismos: sequestrando e inativando os radicais livres, e estimulando sistemas endógenos de defesa (FERGUSON, 2001).

O interesse pela pesquisa sobre novos antioxidantes naturais tem aumentado nos últimos anos, levando as indústrias de alimentos, de cosméticos e farmacêuticos a terem maior atenção em novas fontes, principalmente as de origem vegetal. Os antioxidantes vegetais são de natureza muito variada, mas os compostos fenólicos têm sido apontados como responsáveis por maior capacidade antioxidante, sendo representados pelos flavonóides e isoflavonóides, ácidos fenólicos, taninos, lignanas, xantonas e outros (RAZAVI et al., 2008).

### **2.3.3. Polifenóis como compostos bioativos**

A eficiência antioxidante de compostos bioativos em alimentos de origem vegetal depende de sua estrutura e da sua concentração no alimento. Por sua vez, a quantidade destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por fatores

genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros aspectos (OLIVEIRA et al., 2009).

As dietas ricas em polifenóis são epidemiologicamente associadas à redução do risco de desenvolvimento de algumas doenças relacionadas ao envelhecimento nos seres humanos. Este efeito é frequentemente, atribuído a sua poderosa atividade antioxidante (HALLIWEL, 2008).

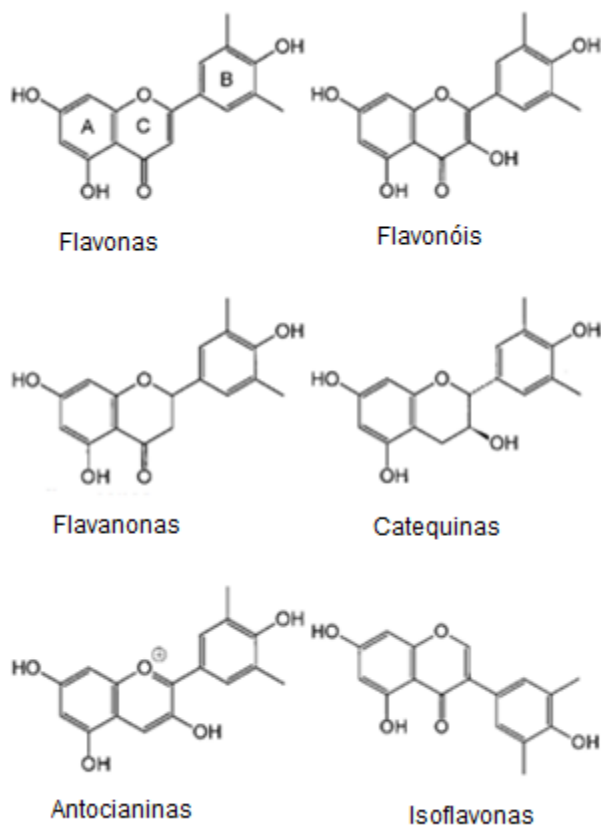
Os compostos fenólicos ou polifenóis constituem uma das famílias de antioxidante mais abundantes na dieta alimentar humana. A sua classificação em grupos é feita pelo número de anéis fenólicos que possuem e pelo tipo de elementos estruturais que ligam esses mesmos anéis. Assim, de acordo com o seu esqueleto de átomos de carbono, os compostos fenólicos podem ser classificados em diversas categorias que incluem os flavonóides, ácidos fenólicos, estilbenos, cumarinas e taninos (FERREIRA et al., 2007; ANTUNES, 2012).

Os vegetais apresentam naturalmente uma diversidade de compostos bioativos, dentre eles destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos e o tocoferol. Estes podem atuar como agentes redutores, sequestradores de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores do oxigênio singlete. Podem também exibir, ao mesmo tempo, mais de uma dessas funções anteriormente citadas. Compostos fenólicos bioativos apresentam atividade antioxidante diferenciada em função do substrato lipídico em que atuam e das características químicas inerentes a cada um deles (MELO; GUERRA, 2002; OH et al, 2013).

Os flavonóides são compostos de baixo peso molecular, constituídos por 15 átomos de carbono, organizados na configuração C6-C3-C6. A sua estrutura química engloba dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, ligados por três átomos de carbono, que formam um anel heterocíclico, denominado anel C (Figura 1). O anel A provém do ciclo acetato/malonato, enquanto que o anel B é proveniente da fenilalanina. As diversas alterações no anel C padrão originam diferentes classes de flavonóides, enquanto que as alterações nos anéis A e B originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonóides. As alterações que ocorrem nos diversos anéis aromáticos são: oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfação (ANGELO & JORGE, 2007).

Os flavonóides são o maior grupo e o mais estudado, possuindo mais de 5.000 compostos identificados, e tem como principais alimentos-fonte frutas e hortaliças, chás, cacau, soja, dentre outros. Dependendo da substituição e do nível de oxidação no

anel C, os flavonoides podem ser divididos em subclasses: flavanóis (catequina), flavonóis (quercitina, kaempferol), flavonas (rutina, apigenina), antocianidinas (cianidina), isoflavonoides (genisteína) e flavanonas (mirecetina, hesperidina) (BRITO, 2013).



**Figura 1.** Estrutura química das diferentes subclasses de flavonoides. (BRITO, 2013).

Estudos recentes têm demonstrado que vários extratos de plantas, particularmente os que contêm flavonóides, parecem apresentar uma significativa atividade antioxidante, capaz de diminuir os efeitos nocivos gerados pelos radicais livres, e conseqüentemente o surgimento de doenças associadas à ação destes radicais (NUNES, 2007).

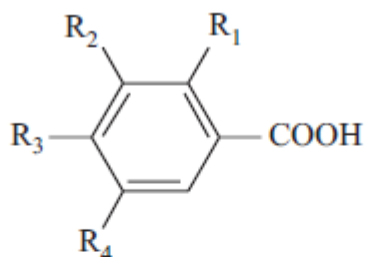
Os polifenóis são o grupo mais abundante de compostos nas folhas de algumas plantas, como o chá. Entre todos os polifenóis, os flavonóides (catequinas) constituem



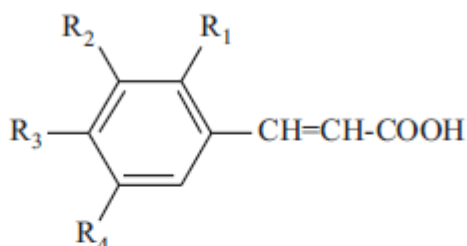
os maiores componentes quantitativamente, ou seja, acima de 30 % da matéria seca de folhas frescas. (FINGER et al., 1992).

Portanto, sabe-se que alguns flavonóides são capazes de se ligar a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalisadores na produção de radicais livres. Essa atividade é o resultado de um conjunto de propriedades, tais como atividade quelante de ferro, atividade seqüestradora de radicais livres, inibição das enzimas cicloxigenase, lipoxigenase, NADPH-oxidase, xantina-oxidase e fosfolipase, e estimulação de enzimas com atividades antioxidantes como a CAT e a SOD (ARAÚJO, 2008).

Os ácidos fenólicos são algumas das substâncias que constituem o grupo dos compostos fenólicos. Caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula. (SOARES, 2002). Eles podem ser divididos em 2 grupos: O primeiro é composto por derivados do ácido benzoico que possuem sete átomos de carbono e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza e dentre os quais se destacam os ácidos siríngico, gálico e vanílico. O segundo grupo é formado pelos derivados do ácido cinâmico, com nove átomos de carbono, dentre os quais se encontram os ácidos o-cumárico, p-cumárico, ácido cafeico, ferúlico e sinápico.



Ácido salicílico:  $R_1 = \text{OH}$ ;  $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$   
 Ácido gentísico:  $R_1 = R_4 = \text{OH}$ ;  $R_2 = R_3 = \text{H}$   
 Ácido *p*-hidroxibenzoico:  $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}$ ;  $R_3 = \text{OH}$   
 Ácido protocatequímico:  $R_1 = R_4 = \text{H}$ ;  $R_2 = R_3 = \text{OH}$   
 Ácido vanílico:  $R_1 = R_4 = \text{H}$ ;  $R_2 = \text{OHC}_3$ ;  $R_3 = \text{OH}$   
 Ácido gálico:  $R_1 = \text{H}$ ;  $R_2 = R_3 = R_4 = \text{OH}$   
 Ácido siríngico:  $R_1 = \text{H}$ ;  $R_2 = R_4 = \text{OCH}_3$ ;  $R_3 = \text{OH}$



Ácido cinâmico:  $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$   
 Ácido *o*-cumárico:  $R_1 = \text{OH}$ ;  $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$   
 Ácido *m*-cumárico:  $R_1 = R_3 = R_4 = \text{H}$ ;  $R_2 = \text{OH}$   
 Ácido *p*-cumárico:  $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}$ ;  $R_3 = \text{OH}$   
 Ácido cafeico:  $R_1 = R_4 = \text{H}$ ;  $R_2 = R_3 = \text{OH}$   
 Ácido ferúlico:  $R_1 = R_4 = \text{H}$ ;  $R_2 = \text{OCH}_3$ ;  $R_3 = \text{OH}$   
 Ácido sináptico:  $R_1 = \text{H}$ ;  $R_2 = R_4 = \text{OCH}_3$ ;  $R_3 = \text{OH}$

**Figura 2** : Estrutura química dos ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos (SILVA, 2011)

De modo geral os antioxidantes atuam da seguinte forma: O grupo 3', 4'-dihidroxi na posição orto do anel B, os arranjos 5,7-di-hidroxi na posição meta do anel A e o grupo 2,3-di-hidroxi no anel C, em função da deslocalização de elétrons, são os elementos estruturais mais relevantes. Os antioxidantes são divididos em diferentes grupos, dependendo do modo de ação (GONZÁLES-BURGOS & GÓMEZ-SERRANILLOS, 2012; AMORATI, FOTI & VALGIMIGLI, 2013): 1- compostos capazes de limpar os radicais livres ou retardar a formação inicial de radicais; 2-

antioxidantes quebradores de cadeia que impedem ou retardam a auto-oxidação, afetando negativamente a reação de propagação; 3- antioxidantes que aumentam a fase de terminação e reduzem a taxa global de oxidação através do encurtamento do comprimento da cadeia; 4- agentes queladores que neutralizam metais pró-oxidantes; e 5- compostos capazes de aumentar as defesas antioxidantes em sistemas vivos.

#### **2.3.4 Antioxidantes no chá de hortelã pimenta**

Entre os principais componentes encontrados em folhas de hortelã estão os ácidos graxos de massa molecular alta tais como: ácido linoleico, linolénico e palmítico. Uma variedade de compostos voláteis, principalmente mentol, mentona e isomentona, também foram identificados, juntamente com  $\beta$ -caroteno, clorofila,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol e ácido ascórbico. A proporção de compostos fenólicos encontrados em folhas de hortelã pimenta é aproximadamente 19-23% de peso seco, dos quais 12% pertence ao grupo dos flavonóides, incluindo eriocitrina, ácido rosmarínico, hesperidina e luteolina-7-O rutinosídeo, entre outros. Estima-se que 75% desses compostos possam ser extraídos numa infusão (MCKAY & BLUMBERG, 2006). Uma infusão de hortelã pimenta fornece, aproximadamente,  $750 \text{ mg L}^{-1}$  de compostos fenólicos, ou seja, o consumo diário de uma ou duas xícaras de chá (250-500 mL) fornece cerca de  $200 \text{ mg L}^{-1}$  a  $400 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente (DUBAND et al., 1992). Como mencionado anteriormente, a infusão também contém cerca de 21% de óleo essencial, representado principalmente por terpenos oxigenados que, em conjunto com os compostos fenólicos, podem ser considerados compostos bioativos do chá de hortelã pimenta. Aproximadamente 49 compostos fenólicos foram identificados, incluindo aqueles representados por diferentes glicosídeos (ex.: glucuronídeo, rutinosídeo). O principal composto detectado foi o ácido rosmarínico ( $0,76 - 60,214 \text{ mg g}^{-1}$ ), seguido do eriodictiolglicopiranosil-ramnopiranosídeo ( $0,006 - 18,083 \text{ mg g}^{-1}$ ), luteolina 7-O-rutinosídeo ( $4,1 - 15,5 \text{ mg g}^{-1}$ ), luteolina glicopiranosil-ramnopiranosídeo ( $0,012 - 8,883 \text{ mg g}^{-1}$ ), luteolina 7-O- $\beta$ -glucuronídeo ( $1,5 - 4,4 \text{ mg g}^{-1}$ ), naringenina 7-O- $\beta$ -glicosídeo ( $0,2 - 3,8 \text{ mg g}^{-1}$ ) e ácido cafeico ( $0,1 - 3,45 \text{ mg g}^{-1}$ ).

## 2.4 OE's

Os OE's são encontrados em vários órgãos dos vegetais, estando relacionados com o metabolismo secundário tendo funções relacionadas a sobrevivência da planta e na defesa contra microorganismos. Podem estar presentes em diferentes partes das plantas, como folhas, flores, madeira, ramos, galhos, frutos, rizomas e raízes. Depois de biossintetizados, eles são armazenados em locais especiais das células, como dutos, canais e bolsas secretoras, além de tricomas e glândulas. São encontrados principalmente nas espécies das famílias *Apiaceae*, *Lauraceae*, *Myristicaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Myrtaceae* e *Rosaceae*, *Piperaceae* e *Rutaceae*, encontradas em praticamente todos os continentes. Possuem um forte aroma, com coloração amarelada e consistência oleosa, sendo líquidos à temperatura ambiente e lipossolúveis. Os OE's nem sempre apresentam aroma agradável e nem sempre as espécies que os contêm possuem propriedades terapêuticas. Contudo, algumas são utilizadas como condimento ou no preparo de chás. Sua extração pode ser feita por meio de diferentes processos, como destilação a vapor, extração por solventes orgânicos voláteis, adsorventes (sílica, carvão ativado) ou por pressão (RIACHI et al., 2012 ; VERMA et al., 2011). Apresentam efeito bactericida, antivirótico, cicatrizante, analgésico, relaxante, antiespasmódico e expectorante. (BIZZO, 2009). Embora de difícil estimativa, avalia-se que para a obtenção de óleos de espécies da família *Lamiaceae*, sejam cultivados mais de 500 hectares (COSTA et al. 2012), destacando-se como espécies de maior utilização e respectiva produção mundial: a *Mentha arvensis* L. var. *piperascens* Holmes, 8.600 toneladas ano<sup>-1</sup>, a *Mentha piperita* L., 2.367 toneladas ano<sup>-1</sup>, a *Mentha spicata* L., 880 toneladas ano<sup>-1</sup>, a *Lavandula x intermedia* Emeric. Ex Loisel., 768 toneladas ano<sup>-1</sup>, a *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth., 563 toneladas ano<sup>-1</sup>, a *Mentha x gracilis* Sole, 530 toneladas ano<sup>-1</sup>, a *Lavandula augustifolia* Mill., 462 toneladas ano<sup>-1</sup> e *Rosmarinus officinalis* L., 295 toneladas ano<sup>-1</sup>.

**Tabela 1.** Os 18 principais OE's no mercado mundial

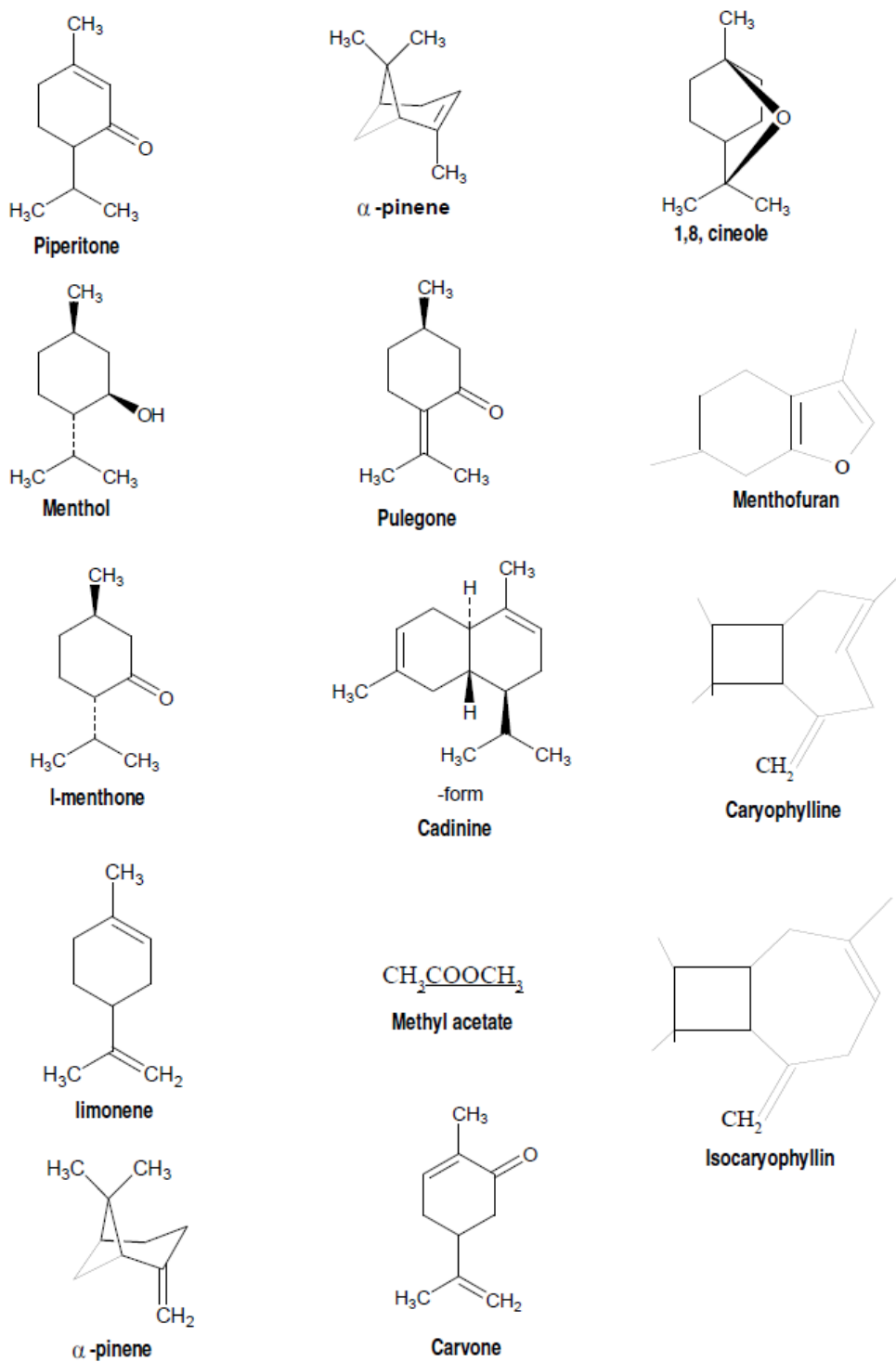
OE	Espécie
Laranja (Brasil)	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck
Menta japonesa (Índia)	<i>Mentha arvensis</i> L. f. <i>piperascens</i> Malinv. ex Holmes
Eucalipto (tipo cineol)	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill., <i>E. polybractea</i> R.T. Baker e <i>Eucalyptus</i> spp.
Citronela	<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt e <i>C. nardus</i> (L.) Rendle
Hortelã-pimenta	<i>Mentha x piperita</i> L.
Limão	<i>Citrus limon</i> (L.) N.L. Burm.
Eucalipto (tipo citronela)	<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook.
Cravo-da-índia	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. e L. M. Perry
Cedro (EUA)	<i>Juniperus virginiana</i> L. e <i>J. ashei</i> Buchholz
Lima destilada (Brasil)	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm. & Panz.) Swingle
Spearmint (nativa)	<i>Mentha spicata</i> L.
Cedro (China)	<i>Chamaecyparis funebris</i> (Endl.) Franco
Lavandim	<i>Lavandula intermedia</i> Emeric ex Loisel
Sassafrás (China)	<i>Cinnamomum micranthum</i> (Hayata) Hayata
Cânfora	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J. Presl.
Coentro	<i>Coriandrum sativum</i> L.
Grapefruit	<i>Citrus paradisi</i> Macfady
Patchouli	<i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth.

**Fonte:** BIZZO, 2009.

#### 2.4.1 Composição do OE de Hortelã pimenta

O OE de hortelã pimenta é um importante agente aromático usado extensivamente em gomas de mascar, pasta de dentes, produtos farmacêuticos e de confeitaria e produtos de aromaterapia (LAWRENCE, 2006; MINT CONSELHO DE PESQUISA DA INDÚSTRIA, 2009). É reportado como tendo propriedades antioxidantes (RIBEIRO ET AL., 2002) ação antibactericida (YADEGARINIA et al, 2006) e é um dos mais importantes constituintes de remédios para síndrome do intestino irritável na Europa (PITTLER AND ERNST, 1998). É constituído principalmente por monoterpenos, atribuindo-se a estes as funções de defesa da planta contra herbivoria, ação antimicrobiana e alelopática (CARDOSO et al., 2004). A pulegona,  $\alpha$ -pineno, sabineno,  $\beta$ -pineno, 3-octanol, 1,8-cineol, limoneno, piperitona, acetato de neomentila, acetato de mentila, t-cariofileno, farneseno, isomentona, neomental, isomentol, mentofurano, mentol e a mentona são os principais componentes do OE, sendo os três últimos de maior valor econômico, embora sejam conhecidos mais de 200 componentes

presentes nos óleos do gênero *Mentha* (TAVISH & HARRIS, 2002). Em geral, as folhas possuem entre 1,2% e 3,9% (p/v) de óleo essencial, o qual contém mais de 300 compostos voláteis identificados (BENN, 1998; FRÉROT; BAGNOUD; VUILLEUMIER, 2002; GÜNTERT et al., 2001; MCKAY; BLUMBERG, 2006; LAWRENCE, 2006; SCHMIDT et al., 2009; CHEN et al., 2011). Os terpenos constituem a classe de compostos majoritários do OE, incluindo mono e sesquiterpenos (GÜNTERT et al., 2001; CHEN et al., 2011). Dentre os monoterpenos, o mentol é o principal constituinte (35-60%), seguido pela mentona (2-44%) e outros compostos minoritários [acetato de mentila (0,7-23%), 1,8-cineol (1-13%), mentofurano (0,3-14%), isomentona (2-5%), neomentol (3-4%), limoneno (0,1-6%), pulegona (<4%),  $\alpha$ -pineno (0,9-1,5%),  $\beta$ -pineno (0,7-0,8%), linalol (0,2-0,7%) e  $\alpha$ -terpineol (0,1-0,3%)], enquanto o  $\alpha$ -cariofileno representa o principal sesquiterpeno (1,6-1,8%) (CLARK; MENARY, 1981; BEHN, 2010; GÜNTERT et al., 2001; VERMA et al., 2011).



**Figura 3** . Alguns dos compostos mais importantes do óleo essencial de hortelã-pimenta (ALANKAR, 2009)

#### **2.4.2 Atividade Antioxidante do óleo essencial de Hortelã Pimenta**

OE's naturais são uma mistura de 430 diferentes tipos de antioxidantes ou compostos terpenóides oxidáveis e sua atividade antioxidante se dá dependendo da, composição, condições experimentais e interação sinérgica ou antagônica. No que diz respeito a resultados positivos, mentol,  $\alpha$ -pineno e 1,8-cineol têm boa ação antioxidante em *Mentha piperita* (GHARIB & SILVA, 2013). Em um estudo de Mímica *et al*, 2003 o OE de hortelã pimenta exibiu alta atividade sequestrante de radicais livres, reduzindo a geração do radical hidroxila ( $\cdot$ OH), quando utilizado o óleo puro.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

- Analisar a composição química e o poder antioxidante de saches de hortelã-pimenta

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Analisar a composição química do OE e da água de condensação obtidos de saches de hortelã pimenta pelo método de CG/EM;
- Analisar a qualidade odorífera dos saches usando CG/olfatometria (O);
- Analisar o poder antioxidante, pelo método de Folin Ciocalteau, do OE e da tisana obtidos das amostras de saches de hortelã pimenta;
- Analisar o poder antioxidante, pelo método de DPPH, do OE e da tisana obtidos das amostras de saches de hortelã pimenta;
- Analisar o poder antioxidante do OE e da tisana obtidos das amostras de saches de hortelã pimenta avaliando a estabilidade oxidativa de uma amostra de óleo de soja.

## **4.0 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Amostras**

O estudo foi realizado com 5 marcas de sachês de hortelã pimenta (*Mentha piperita*) adquiridos em 8 redes de supermercados na região do Estado do Rio de Janeiro com 3 lotes diferentes de cada marca.

### **4.2 Obtenções da Fração Volátil**

Para obtenção da fração volátil foi utilizado o método de hidrodestilação com aparelho de *Clevenger*. Foi utilizado 100 gramas de sachês com 700 ml de água que foram submetidos a uma temperatura de 97°C por 4 horas. O OE obtido foi separado da água e secado com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em dessecador à vácuo, sendo mensurado o volume de cada lote/marca analisados, usando como base a Farmacologia Brasileira (2010).

### **4.3 Identificação da composição química**

#### **4.3.1 CG/EM**

As análises quantitativas do OE foram realizadas por CG/EM, modelo Shimadzu GC-17A/QP-5050 (Shimadzu, Japão) com sistema de dados próprio, um “scan” cíclico de 1 s e um limite de massa de m/z 20-300, com coluna apolar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm). A temperatura da fonte de íons foi de 240°C. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, e as temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 220°C e 240°C, respectivamente. A temperatura inicial do forno foi de 60°C, isotérmico por 1,5 min, seguido por rampa de com temperatura de 3°C por min até 240°C e rampa de 10°C por min até 270°C. O OE e a água de condensação foram injetados manualmente no cromatógrafo com volume de injeção de 1,0 µL, no modo split, a uma razão de injeção de 1:20. A análise quantitativa foi obtida por meio da integração do cromatograma total de íons, e o teor dos constituintes eluídos foi expresso como porcentagem de área relativa das áreas dos picos. Todas as amostras de hortelã serão analisadas em 3 replicatas. A composição da fração de OE será estimada pela análise semi-quantitativa dos compostos voláteis usando método de padronização externa (ADAMS, 2007; DAVIES, 1990). A média e o desvio padrão foram executados usando um pacote estatístico.

### **4.3.2 CG/O**

Foi usado um cromatógrafo gasoso, modelo 4300 (Carlo Erba, Itália). A coluna e as condições cromatográficas foram as seguintes: Coluna apolar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm, 0,25  $\mu\text{m}$ ); programação do forno de 50-240°C a 3°C  $\text{min}^{-1}$  e então mantida a 240°C por 20 min. O injetor foi mantido a 240°C, respectivamente, exceto que na saída da coluna foi colocado um divisor na razão de 1:20, de modo que uma parte do efluente da coluna fosse desviada para um sistema artesanal, o que permite ao analista sentir os odores dos compostos voláteis separados durante a cromatografia gasosa. (ACREE; TERANISHI, 1993)

### **4.3.3 Análise de pH e mV**

Foi realizada a análise de pH e condutividade elétrica das amostras de OE e de tisana em triplicata pelo aparelho pHmetro da marca Quimis® modelo 0400AS.

### **4.3.4 Rendimento do óleo essencial de hortelã pimenta**

O rendimento do OE foi realizado pelo volume de OE extraído a partir de 100g de amostra no aparelho de *Clevenger*.

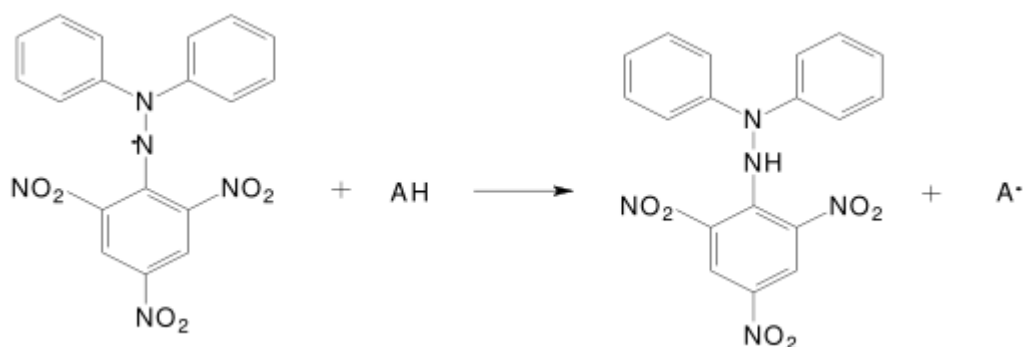
### **4.3.5 Contagem de Impurezas**

. A análise de impurezas foi realizada a olho nu, não levando em consideração a presença ou não de outras espécies de planta.

## **4.4 ANÁLISES DO PODER ANTIOXIDANTE**

### **4.4.1 Atividade Antioxidante Pela Captura do Radical Livre DPPH**

O método espectrofotométrico do DPPH tem como base a captura do radical DPPH (difênil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância a 515 nm (BRAND-WILIANS et al., 1995). O radical DPPH possui coloração púrpura que por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar ( $\cdot\text{R}$ ) é reduzido formando difênil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorvância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou porcentagem de DPPH (BORGES et al., 2011).



**Figura4.** Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante. (SÁNCHEZ-MORENO, 2002)

Para a determinação da atividade antioxidante foi utilizado o método espectrofotométrico do DPPH. Uma solução de 0,06 mM de DPPH foi preparada, homogeneizada, transferida para um recipiente de vidro escuro e utilizada apenas no dia da análise. Para o preparo da curva padrão foram utilizados os seguintes volumes de acordo com a Tabela 2.

**Tabela 2.** Curva padrão utilizada na análise da atividade antioxidante.

Solução de DPPH	Metanol	Concentração final de DPPH ( $\mu\text{M}$ )
0	25 mL	0
5	20 mL	12
12,5	12,5 mL	30
25	0 mL	60

A solução de DPPH e o extrato de chá foram adicionados nas cubetas obtendo-se um volume final de 3 mL. Foram realizadas cinco leituras em triplicata, com intervalos de dez minutos entre elas, até a estabilização das amostras. A primeira leitura foi realizada após 10 minutos de seu preparo, e a última após 50 minutos a 515 nm no espectrofotômetro.

#### 4.4.2 Teor de Compostos Fenólicos Totais

O reagente de *Folin Ciocalteu* é uma solução de íons complexos poliméricos formados a partir de heteropoli-ácidos fosfomolibdicos e fosfotungsticos de cor amarelada. Esse reagente oxida os fenolatos, reduzindo os ácidos a um complexo azul. (NEVES, 2009). Os compostos fenólicos totais foram determinados através do método espectrofotométrico de *Folin-Ciocalteu*. Foram preparadas e adicionadas na cubeta uma solução de 10% de *Folin-Ciocalteu*, uma solução de carbonato de sódio a 4% e uma solução metanólica das amostras de chá ou de óleo. A leitura foi realizada após 2 horas a 750 nm.

#### 4.4.3 Avaliação da Estabilidade Oxidativa do Óleo de Soja

Foram preparadas para essa análise 6 combinações de diferentes composições para cada marca analisada. Essas combinações foram então medidas no tempo zero e depois de 5 em 5 dias até o 15º dia, sendo mantidas na estufa durante o intervalo de tempo a 45°C. De cada combinação era feita uma solução em que se pegava 10µl da primeira e avolumava-se em um balão de 10 ml com octanol, para então ser feita a leitura em espectrofotômetro à 233nm. O experimento foi realizado duas vezes com todas as marcas analisadas com base na metodologia empregada por Luzia et al, 1998.

**Tabela 3.** Combinações de 1 à 6 utilizadas na análise.

Combinação 1	Óleo de soja (20g) + 2ml de etanol
Combinação 2	Óleo de soja(20g) + palmitato(0,646g) + 2ml de etanol
Combinação 3	Óleo de soja(20g) + OE + 2ml de etanol
Combinação 4	Óleo de soja(20g) + palmitato (0,646) + OE + 2ml de etanol
Combinação 5	Óleo de soja(20g) + tisana + 4ml de etanol
Combinação 6	Óleo de soja(20g) + palmitato (0,646) + tisana + 4ml de etanol

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram calculados a média e o desvio-padrão para todas as análises realizadas no estudo com exceção da análise da Avaliação da Estabilidade Oxidativa do Óleo de Soja, que foi realizada uma foi usado o teste de *Wilcoxon* para dados não paramétricos quando comparadas duas amostras independentes e o teste de *Kruskal-Wallis* para dados não paramétricos para mais de duas amostras. Foi considerado para os dois testes nível mínimo de significância de 5%.

## 5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição Química

#### 5.1.1 Análise de pH e mV das tisanas de hortelã pimenta

Nas análises de pH e condutividade elétrica, as amostras apresentaram resultados muito similares, e, portanto, não foi aplicado testes de significância. A média do pH das amostras foi de  $6,028 \pm 0,04$ , com valor máximo de  $6,097 \pm 0,055$  para a marca 1 e mínimo de  $5,99 \pm 0,01$  para a marca 2. A condutividade elétrica teve uma média de  $0,052 \pm 0,004$ , com valor máximo de  $0,057 \pm 0,0021$  para a marca 2 e mínimo de  $0,048 \pm 0,002$  para a marca 1, conforme mostra a Tabela 4.

**Tabela 4.** Médias e desvio padrão das análises de pH e mV de tisanas de todas as marcas.

	pH	mV
<b>Marca 1</b>	$6,097 \pm 0,055$	$0,048 \pm 0,0020$
<b>Marca 2</b>	$5,990 \pm 0,010$	$0,057 \pm 0,0021$
<b>Marca 3</b>	$6,007 \pm 0,006$	$0,054 \pm 0,0012$
<b>Marca 4</b>	$6,043 \pm 0,051$	$0,050 \pm 0,0015$
<b>Marca 5</b>	$6,003 \pm 0,032$	$0,051 \pm 0,0031$

#### 5.1.2 Rendimento do OE de hortelã pimenta

Para o cálculo de rendimento do OE de hortelã pimenta foi considerada a densidade de  $0,91 \text{ g ml}^{-1}$ , o qual foi realizado através do peso do OE extraído, que está de acordo com a densidade descrita na Farmacopéia Brasileira (2010). (ano) de  $0,9 \text{ g ml}^{-1}$  a  $0,91 \text{ g ml}^{-1}$ . A média do rendimento de OE extraído das amostras analisadas, foi de 0,6%, com a marca 3 tendo o maior rendimento e a marca 4 o menor, conforme Tabela 5. O rendimento de OE encontrado nas amostras analisadas se encontra menor que em outros trabalhos em que o rendimento variou entre 1,2% e 3,9% (p/v) (LAWRENCE, 2006; SCHMIDT et al., 2009; CHEN et al., 2011) e menor que o descrito na Farmacopéia Brasileira, o qual é no mínimo 1,2% de OE em folhas inteiras e, no mínimo 0,9% de OE em folhas rasuradas. Algumas suposições podem ser apresentadas para explicar esse baixo rendimento. A presença de material vegetal de outra procedência, ou seja, não pertencente ao gênero *Mentha* poderia estar adicionada a folhas de hortelã pimenta sem afetar a distribuição proporcional de p-mentanos, porém

alterando o rendimento de OE, sobretudo se o material não produzir OE. Porém, não pode ser descartado o fato da hortelã pimenta ser composta de vários híbridos com poliploidia o que poderia influenciar o rendimento de óleo. De qualquer forma, o baixo rendimento de óleo nos sachês pode levantar a suspeita de que os mesmos não são representativos da hortelã pimenta.

**Tabela 5.** Rendimento do OE de hortelã pimenta

<b>Marcas</b>	<b>Extrato seco utilizado</b>	<b>Volume destilado(ml)</b>	<b>Rendimento(%)</b>
<b>1</b>	100g	0,63±0,06	0,57
<b>2</b>	100g	0,71±0,01	0,65
<b>3</b>	100g	0,77±0,06	0,7
<b>4</b>	100g	0,58±0,03	0,53
<b>5</b>	100g	0,60±0,02	0,55

### 5.1.3 Contagem de impurezas

Em relação a contagem de impurezas do sachê de hortelã pimenta (Tabela 6), as marcas analisadas se encontraram com uma média percentual igual a 7, sendo a Marca 4 com menor porcentagem de impurezas e a Marca 5 com a maior quantidade. A análise de impurezas foi realizada a olho nu, não levando em consideração a presença ou não de outras espécies de planta, para isso teria que ser feita uma análise genômica do material.

**Tabela 6.** Contagem de Impurezas nos sachês de Hortelã Pimenta.

<b>Marcas</b>	<b>Extrato seco do sachê</b>	<b>Impurezas (%)</b>
<b>1</b>	<b>1g</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>1g</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>1g</b>	<b>7</b>
<b>4</b>	<b>1g</b>	<b>2</b>
<b>5</b>	<b>1g</b>	<b>13</b>



## 5.2 Composição Química do OE de Hortelã Pimenta

### 5.2.1 CG/EM

Os OE's analisados por CG/EM tiveram um total de 45 compostos identificados (Tabela 7), em ordem crescente a Marca 3 com 39 compostos; a Marca 2 e 5 com 41; a Marca 1 com 42; e a Marca 4 com 43. Dentre os monoterpenos o mentol é o principal constituinte em todas as marcas, seguido da mentona; outros compostos minoritários também foram encontrados em todas as marcas como o acetato de mentila, a pulegona, o mentofurano, o limoneno e a carvona. Segundo Dey & Harborne (1997) e Croteau et al. (2000) o mentol constitui mais de 40% do total de OE, enquanto a mentona constitui mais de 20 % do total; ambos os componentes, sobretudo o mentol, são responsáveis pela sensação de refrescância da *Mentha piperita* L. Conforme Merck (1996), o mentol é empregado na indústria para confecção de licores, perfumes, cigarros, pastilhas e inalantes nasais, e em medicamentos com ação anti-prurítica, anestésica, anti-séptica, carminativa e sedativa gástrica. A mentona é usada na composição de perfumes e aromatizantes. Embora de menor valor econômico, o acetato de mentila também pode servir à perfumaria, enfatizando notas florais, especialmente as de rosas. Pode ser usado em água de colônia, devido ao odor de lavanda que apresenta, servindo também para fazer extratos aromatizantes de ambientes. A carvona, segundo Carvalho & Fonseca (2006), é importante agente antimicrobiano contra bactérias e fungos patogênicos, daí o seu emprego como composto isolado ou através do OE, em alimentos e produtos anti-sépticos. Possui também atividade inseticida, atuando contra moscas das frutas, larvas de insetos, inclusive sobre *Aedes aegypti* o vetor da dengue hemorrágica. Elevados conteúdos de linalol e acetato de linalila no OE também são interessantes. Esses aromas entram na composição de produtos cosméticos, tais como: cremes faciais, loções para o corpo, fragrâncias em creme, desodorantes, perfumes, xampus, produtos de banho, géis, sabonetes e spray para cabelos. Podem ser usados também em produtos não-cosméticos como detergentes, produtos de limpeza (LETIZIA et al., 2003A, 2003B) e em medicamentos. Recentes estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que o linalol exerce atividade anti-inflamatória, antinociceptiva, anti-hiperalgésica, anestésica e antioxidante (PEANA et al., 2006). A pulegona é conhecida pela sua atividade biológica, atuando como repelente de insetos e abortiva para animais

e humanos. Além disso, pode ser usada como potente desodorante (PHATAK & HEBLE, 2002).

**Tabela 7.** Composição dos OE's das 5 Marcas analisadas.

Compostos	Marca 1 (área %)	Marca 2 (área %)	Marca 3 (área %)	Marca 4 (área %)	Marca 5 (área %)
Hexenol	0,01±0,01	-	-	-	-
Heptanol	0,04±0,04	-	0	0	0
Carbinol	0,11±0,09	0,11±0,02	0,04±0,05	0,3±0,04	0,36±0,25
3-octanol	0,20±0,03	0,3±0,04	0,1±0,13	0,3±0,01	0,04±0,02
Eucaliptol	0,42±0,04	1,21±0,11	0,3±0,26	1,6±0,06	1,31±1,4
Acetofenona	0,01±0,01	0	-	-	0,01±0,01
γ-terpineno	0,07±0,06	0,35±0,56	0,12±0,01	0,1±0,02	0,2±0,03
1-octanol	0,02±0,01	0,15±0,11	0,2±0,0	0	0,02±0,04
Careno	0,02±0,0	0	0,1±0,0	0	-
Linalol	0,13±0,07	0,22±0,02	0,12±0,11	0,3±0,03	0,19±0,12
Limoneno	0,01±0,01	0	0	0	0,03±0,01
1-ciclopropil-2-propanona	0,00±0,0	0,01±0,0	-	0,2±0,02	0,09±0,1
isocarveol	0,05±0,05	0,1±0,09	0,06±0,02	0	0,05±0,0
Mentona	14,09±1,18	21,22±3,67	15,31±0,55	6,2±2,02	6,73±3,34
α-Pirocarvona	0,01±0,01	0,02±0,01	0,01±0,0	0,2±0,15	-
Iso-Mentona	4,04±0,61	6,64±0,63	4,24±0,06	0,1±0,0	4,22±2,25
Mentofurano	0,34±0,21	0,26±0,09	0,16±0,01	0,1±0,12	0,32±0,21
Neomentol	3,50±1,11	3,86±0,32	2,83±0,13	4,6±0,71	0,74±0,63
Mentol	44,71±4,80	37,08±5,03	50,70±0,54	35,5±5,1	38,17±6,12
Iso-mentol	-	0,51±0,05	-	2,3±1,1	1,18±1,99
Caranol	-	0,03±0,02	0,51±0,06	1,6±0,03	1,98±0,1
transcarveol	0,09±0,02	-	-	0,2±0,1	0,04±0,01
Mirtenol/piperiol	0,31±0,27	0,22±0,27	0,06±0,03	0,1±0,1	0,18±0,14
Pulegona	3,01±0,71	2,76±0,55	2,18±0,05	1,1±0,2	1,31±0,02
Carvona	0,70±0,54	0,05±0,01	0,72±0,07	0,1±0,1	0,02±0,01
Piperitona	0,05±0,01	1,84±0,06	0,03±0,0	0,3±0,28	0,09±0,01
Chavicol	-	0,01±0,0	1,69±0,26	0,5±0,15	0,04±0,0
Acetato de Mentila	7,12±1,19	6,99±0,43	4,58±0,1	4,1±0,18	4,15±0,09
Berbenona	0,05±0,02	0,03±0,02	0,02±0,01	0	0,06±0,02
α-cubeneno	0,68±1,14	0,02±0,01	0,01±0,0	0,1±0,01	0,04±0,02
Damascemona	0,09±0,07	0,02±0,02	0,03±0,0	0,1±0,02	0,18±0,03
Jasmona	0,50±0,08	0,05±0,03	0,05±0,01	0,3±0,09	0,6±0,02
B-bouberneno	0,46±0,07	0,45±0,14	0,32±0,0	0,7±0,47	0,55±0,06
isocariofileno	0,08±0,06	0,05±0,01	0,01±0,01	0,1±0,02	0,41±0,5
Humuleno	0,18±0,06	0,14±0,06	0,11±0,01	0,00,09	0,23±0,02
γ-muroleno	0,22±0,02	0	0,08±0,01	0,8 ±0,47	0,28±0,02
Ciclohexilcetona	0,06±0,04	0,02±0,03	0,05±0,01	0,1±0,02	0,12±0,03
Thujopseno	0,09±0,05	0,03±0,02	0,08±0,01	0,1±0,01	0,09±0,01
Espatulenol	0,11±0,04	0,64±0,32	0,08±0,01	0,6±0,01	0,15±0,01
Epiglobulol	2,79±0,05	1,31±0,22	0,12±0,03	0	0,26±0,02
Cubenol	0,14±0,05	0,11±0,04	0,14±0,09	0,9±0,07	0,59±0,05
β-neoclovena	0,19±0,03	0,13±0,02	0,23±0,01	0,2±0,01	0,42±0,49
Ledeno	0,30±0,0	-	-	0,8±0,05	0,54±0,04
Ácido palmítico	0,45±0,43	0,75±0,04	0	0,5±0,12	-
Fitol	0,58±0,20	0,44±0,34	0,51±0,12	1,0±0,03	0,46±0,05

Quando comparamos as porcentagens dos compostos de maior importância no OE de hortelã pimenta identificados nos óleos analisados, junto com a Farmacopeia Brasileira (2010) e artigos científicos conforme descritos na Tabela 8, podemos perceber que o preconizado pela Farmacopéia Brasileira (2010) difere do resultado encontrado em artigos, e as Marcas analisadas na maioria dos compostos se encontram de acordo tanto com a Farmacopéia Brasileira (2010) quanto com os artigos com exceção da iso-mentona da Marca 2, que está acima do encontrado nos artigos; o neo-mentol da Marca 4 que difere dos dois e a Pulegona em que a Marca 1,2 e 3 diferem da Farmacopéia Brasileira (2010).

**Tabela 8.** Porcentagem dos Compostos de Maior Importância no OE de Hortelã Pimenta.

Compostos de Importância	Marca 1	Marca 2	Marca 3	Marca 4	Marca 5	Farmacopéia Brasileira	Artigos (*)
<b>Limoneno</b>	0,01±0,01	0	0	0	0,03±0,01	0,5-5,0	0,1-6,0
<b>Mentona</b>	14,09±1,18	21,22±3,67	15,31±0,55	6,2±2,02	6,73±3,34	6,0-30,0	2,0-44,0
<b>Isomentona</b>	4,04±0,61	6,64±0,63	4,24±0,06	0,1±0,0	4,22±2,25	2,0-10,0	2,0-5,0
<b>Neo-mentol</b>	3,50±1,11	3,86±0,32	2,83±0,13	4,6±0,71	0,74±0,63	2,0-3,5	3,0-4,0
<b>Mentol</b>	44,71±4,80	37,08±5,03	50,70±0,54	35,5±5,1	38,17±6,12	35,0-79,0	35,0-60,0
<b>Pulegona</b>	3,01±0,71	2,76±0,55	2,18±0,05	1,1±0,2	1,31±0,02	Máximo 2,0	Máximo 4,0
<b>Acetato de Mentila</b>	7,12±1,19	6,99±0,43	4,58±0,1	4,1±0,18	4,15±0,09	3,0-10,0	0,7-23,0

\* AFLATUNI, A. 2005; ANVISA (2010); BEHN ET AL., 2010; CLARK; MENARY, 1981;; GÜNTERT et al., 2001; SCAVRONI, J. 2006; SOUZA, W.P. 2006; VERMA et al., 2011

Na análise da água condensada que é a água que fica retida no aparelho de *Clevenger* após ser condensada pelo processo de hidrodestilação do OE, verificou-se uma distribuição composicional parecida com a do OE, com 11 compostos a menos, contendo um total de 34, em ordem crescente a Marca 3 com 7; a Marca 1 com 10; a Marca 5 com 13; a Marca 4 com 15; e a Marca 2 com 20 (Tabela 9). Os dois compostos majoritários, mentol e mentona se apresentaram com porcentagens semelhantes aos do OE. A grande quantidade de compostos semelhante ao óleo se deve ao fato de que o extrato aquoso ainda contem um percentual de óleo que não se consegue recolher. Portanto, seria interessante verificar o rendimento de óleo nessa fração, a fim de avaliar se é economicamente viável proceder a essa recuperação. O hidrolato (água de extração) também foi investigado quanto à composição. Nós procedemos à extração do óleo

residual baseado nos artigos de Orav and Kann (2001) e Verma et al. (2011). Foi realizada a extração com hexano (10:1) por duas vezes, e o extrato hexânico foi seco em atmosfera de nitrogênio e então aplicado no CG/EM. Nós não conseguimos obter OE, porém alguns compostos voláteis foram detectados através da CG/EM.

Também realizamos a extração de OE residual da tisana por meio de aparelho de *Clevenger*. Não conseguimos obter OE. Então submetemos um volume de tisana à extração com hexano e, também, não conseguimos obter OE. Em ambos água de condensação e extrato hexânico da tisana não foram encontrados quaisquer compostos voláteis representativos do OE da hortelã pimenta via CG/EM. Na figura 6 são mostrados os locais, nos quais a água de condensação e o hidrolato foram recuperados. A princípio a fração óleo da tisana é muito pequena, o que difere dos achados de Duband et al. (1992) que encontraram 21% do óleo original na tisana. O fato do rendimento de óleo nos sachês ser muito baixo poderia influir na quantidade de óleo na tisana, já que Duband et al. (1992) usou a planta original. Um experimento interessante seria liofilizar a tisana e depois extrair com hexano. Dessa forma, a fração óleo estaria concentrada e poderíamos identificar sua composição.

**Tabela 9.** Composição das Águas Condensadas da Extração dos OE's das 5 Marcas Analisadas.

Compostos	Marca 1 (área %)	Marca 2 (área %)	Marca 3 (área %)	Marca 4 (área %)	Marca 5 (área %)
Carbinol	-	0,03±0,02	-	0,17±0,11	-
3-octanol	-	0,22±0,07	-	0,20±0,09	0,02±0,01
Eucaliptol	-	0,87±0,26	-	1,18±0,23	-
Acetophenona	-	0,14±0,02	-	-	0,01±0,01
γ-terpineno	-	-	-	-	0,19±0,02
Linalol	-	0,19±0,04	-	-	-
Limoneno	-	-	-	-	0,03±0,01
iso carveol	-	-	-	0,37±0,19	-
Mentona	11,84±2,17	23,47±2,43	11,76±3,40	9,53±1,59	2,16±0,02
α-Piroparvona	3,07±2,66	-	-	0,31±0,38	-
Iso-Mentona	2,07±1,80	6,46±0,88	3,40±1,45	-	4,75±0,19
Mentofurano	-	-	-	-	0,08±0,02
Neo-Mentol	1,22±0,11	3,60±0,17	0,73±0,12	13,78±14,52	0,92±0,03
Mentol	54,57±3,87	42,56±0,30	55,14±2,65	36,33±10,47	32,16±1,44
Iso-mentol	-	0,28±0,30	-	-	0,06±0,02
Caranol	-	0,47±0,08	0,51±0,06	-	1,86±0,13
transcarveol	-	-	-	-	0,03±0,01
Mirtenol/piperiol	-	-	0,86±0,48	-	-
Pulegona	-	1,89±0,23	4,48±1,04	-	-
Carvona	-	0,7±0,59	-	-	-
Piperitona	-	-	-	0,08±0,03	-
Chavicol	-	-	-	0,53±0,09	-
Acetato de Mentila	4,35±0,17	7,13±0,64	-	3,88±0,44	3,9±0,3
Berberona	0,05±0,01	0,08±0,08	-	-	-
B-bouberneno	-	-	-	0,47±0,10	-
isocariofileno	0,02±0,01	-	-	-	-
humuleno	0,18±0,06	-	-	-	-
γ-muroloeno	0,05±0,01	-	-	0,2±0,01	-
ciclohexilcetona	-	0,01±0,01	-	-	-
Tujopseno	-	0,02±0,01	-	-	-
Espatuleno	-	0,12±0,02	-	-	-
Epiglobulol	-	0,94±0,19	-	-	-
Cubenol	-	0,03±0,02	-	0,75±0,14	-
Fitol	-	-	-	1,24±1,43	-



**Figura 5.** Aparelho de *Clevenger* durante a extração do OE.

### 5.2.2 CG/O

Cerca de 51 % dos compostos identificados por CG/EM também foram detectados por CG/O. Uma parcela dos compostos voláteis apresentou odor similar a menta, tais quais: eucaliptol, linalol, carveol, mentona, pirocarvona, acetato de mentila, epiglobulol e cubenol. É importante enfatizar que o mentol embora seja o composto majoritário (40 % ou mais dos sólidos totais) ele não foi percebido pelo CG/O. O limite de detecção (*thrshold*) do mentol parece ser muito alto, o que foi comprovado quando aquecemos o mentol sólido a 40°C para fundí-lo. Ao aplicarmos 2  $\mu\text{L}$  do mentol fundido não conseguimos fazer a percepção odorífera. Dessa forma, o mentol tem alto *thrshold*, muito embora não haja na literatura informação disponível sobre o *thrshold* no ar desse composto. Alguns compostos, dentre eles, mentona, mentofurano, acetato de mentila e epiglobulol, tiveram percepções odoríferas similares em todas as marcas.

Outras notas odoríferas foram percebidas em todos os saches, dentre elas, pungente, tinta e notas desagradáveis.

**Tabela 10.** Compostos de percepção odorífera encontrados por CG/O do OE das 5 Marcas analisadas.

<b>Compostos</b>	<b>Marca 1 (odor)</b>	<b>Marca 2 (odor)</b>	<b>Marca 3 (odor)</b>	<b>Marca 4 (odor)</b>	<b>Marca 5 (odor)</b>
<b>Hexenol</b>			Queimado	Queimado	Queimado
<b>Heptanol</b>	Tinta		Solvente	Solvente	
<b>Carbinol</b>	Reagente	enxofre	Enxofre		Podre
<b>3-octanol</b>	ácido	Solvente			
<b>Eucaliptol</b>	Leve de hortelã	Hortelã			
<b>Acetofenona</b>	Solvente		Solvente		Solvente
<b><math>\gamma</math>-terpineno</b>	Solvente		Ácido	Ácido	
<b>Linalol</b>	Menta suave		Hortelã fraco		Hortelã fraco
<b>Limoneno</b>					
<b>1-ciclopropil-2-propanona isocarveol</b>		Reagente			Desagradavel
<b>Menthona</b>	Menta doce	Hortelã			
	Hortelã	Hortelã doce	Hortelã	Hortelã fraco	Hortelã doce
	refrescante				
<b><math>\alpha</math>-Pirocarvona</b>	Hortelã ácido	Hortelã fraco			
<b>Iso-Menthona</b>	Hortelã doce e fraco				
<b>Mentofurano</b>	Mentol com reagente	Horrível muito forte	Reagente forte	Forte ruim	Pungente ruim
<b>transcarveol</b>	Mentol enjoativo	Menta fraco			
<b>Mirtenol/piperiol</b>					
<b>Pulegona</b>	Ácido pungente	Ruim			
<b>Acetato de Mentila</b>	Pasta de dente	Pasta de dente	Hortelã refrescante	Hortelã forte	Pasta de dente
<b>Espatulenol</b>	Suave de menta		Planta	Planta	Planta
<b>Epiglobulol</b>	Suave de menta	Menta doce	Hortelã	doce	Rápido hortelã
<b>Cubenol</b>	Chá de hortelã				Hortelã chá
<b><math>\beta</math>-neocloveno</b>	Hortelã ácido	Ácido			
<b>Ledeno</b>	Ardente e pungente		Enjoativo	Desagradavel	Enjoativo

### 5.3 Poder Antioxidante dos OE's e das Tisanas dos Saches das 5 Marcas Analisadas

#### 5.3.1 DPPH

Quanto maior a atividade antioxidante da amostra testada, mais estável o radical DPPH vai se tornar em função de sua captura pelo antioxidante. A estabilização do radical causa a sua descoloração, diminuindo a absorvância. O resultado da atividade antioxidante em relação ao radical DPPH está demonstrado como IC<sub>50</sub> (concentração capaz de inibir 50% do DPPH) na Tabela 11. Se considerarmos todas as marcas, temos uma média de 19,75 mg ml<sup>-1</sup> para as tisanas e 41,84 mg ml<sup>-1</sup> para os OE's, ou seja, a atividade antioxidante encontrada nas tisanas é duas vezes maior que as encontradas nos OE's. Se considerarmos cada marca separadamente, com exceção da Marca 4, todas as marcas apresentam a atividade antioxidante da tisana pelo menos duas vezes maior do que àquelas do OE. A marca que apresentou maior atividade antioxidante nas tisanas foi a Marca 3 (13,74 mg ml<sup>-1</sup>) seguidos da Marca 1 (17,43 mg ml<sup>-1</sup>); Marca 4 (23,56 mg ml<sup>-1</sup>); Marca 2 (23,64 mg ml<sup>-1</sup>) e Marca 5 (20,38 mg ml<sup>-1</sup>). Gruľová (2012), em seu estudo, achou valores de IC<sup>50</sup> para tisanas de hortelã pimenta que variaram de 13,57 mg ml<sup>-1</sup> a 56,29 mg ml<sup>-1</sup> dependendo da época do ano. É importante ressaltar que o resultado de 56,29 mg ml<sup>-1</sup> foi encontrado apenas em uma época do ano. Esses valores são, em parte similares, aos encontrados em nosso estudo. Nickavar et al.(2008), em seu estudo com 5 diferentes espécies de *Mentha*, encontrou um valor de IC<sup>50</sup> de 13,32 mg ml<sup>-1</sup> para a hortelã pimenta, que apresentou maior atividade antioxidante que as outras espécies do gênero *Mentha*. Morais *et al.* (2009) em seu estudo avaliou diversas plantas e as amostras mais eficientes em relação aos radicais livres foram: chá verde (*Camellia sinensis*) com o índice capaz de inibir 50% dos radicais livres (IC<sup>50</sup>) de 0,14mg mL<sup>-1</sup>; canela (*Cinnamomum zeylanicum*) com IC<sub>50</sub> de 0,37 mg mL<sup>-1</sup>; cravo (*Dianthus caryophyllus*) com IC<sub>50</sub> de 0,46 mg mL<sup>-1</sup>; louro com IC<sub>50</sub> 0,76; chá preto (*Camellia sinensis*) IC<sub>50</sub> 0,96 mg mL<sup>-1</sup>, valores bem menores que os encontrados em nosso trabalho. Ou seja, essas ervas teriam maior poder redutor do que a hortelã pimenta. Abreu (2013), em seu estudo avaliou a atividade antioxidante do chá de carqueja (*Baccharis trimera*), erva mate (*Ilex paraguayienses*) e boldo (*Peumus boldus Molina*) que apresentaram valores considerados elevados por ele, de IC<sub>50</sub> de 13,70mg mL<sup>-1</sup>; 19,62 mg mL<sup>-1</sup> e 22,15mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente, valores esses que foram similares ao



do nosso estudo. Zheng & Wang (2001) sugeriram que não somente a quantidade do antioxidante, mas também a sinergia que ocorre entre eles e outros constituintes da planta, que influenciam as diferenças na capacidade antioxidante de extratos de plantas.

Em relação aos OE's a Marca que apresentou atividade antioxidante maior foi a Marca 1 (36,08 mg ml<sup>-1</sup>) seguidas da Marca 3 (37,07 mg ml<sup>-1</sup>); Marca 4 (38,80 mg ml<sup>-1</sup>); Marca 5 (40,60 mg ml<sup>-1</sup>) e Marca 2 (56,63 mg ml<sup>-1</sup>). O padrão de atividade antioxidante das tisanas não se repete nos OE's. Süleyman Kizil (2010) em um estudo que analisou a atividade antioxidante em dois diferentes tipos de *Mentha*, encontrou um valor de IC<sub>50</sub> de 60,41±0,60 mg ml<sup>-1</sup> no OE de *Mentha piperita*, semelhante ao óleo da Marca 2 analisada. Todos os resultados são compatíveis com o fraco desempenho dado pelos OE's, sobretudo, do gênero *Mentha* (RUBERTO & BARATTA, 2000). As maiores propriedades antioxidantes de ervas medicinais pode estar relacionada com o seu conteúdo de fenólicos, tais como: os ácidos fenólicos, e flavonóides, como relatado em estudos anteriores (DORMAN, 2003; DERWICH, 2011). Portanto, a razão da fraca atividade destes OE's, provavelmente, é devido à falta ou baixíssima quantidade desse conteúdo fenólico (CANDAN ET AL., 2003). Entretanto alguns terpenos, tais como, terpinoleno, terpineno, timol, carvacrol dentre outros, também conferem atividade antioxidante e, portanto, OE's contendo esses compostos teriam potencial antioxidante (AMORATI, FOTI & VALGIMIGLI, 2013; LIZA & DE MARIA, 2015).

**Tabela 11.** Valores de IC<sup>50</sup> dos OE's e das Tisanas das 5 Marcas Analisadas.

Marcas	OE IC 50 (mg ml <sup>-1</sup> )	Tisana IC 50 (mg ml <sup>-1</sup> )
1	36,08	17,43
2	56,63	23,64
3	37,07	13,74
4	38,80	23,56
5	40,60	20,38

### 5.3.2 Teor de Compostos Fenólicos Totais

Os resultados do conteúdo de fenólicos totais das 5 Marcas analisadas encontram-se apresentados na Tabela 12. O teor de fenólicos totais das tisanas de todas as marcas é superior ao encontrado nos OE's, resultado esse já esperado em função da ausência de ácidos fenólicos e flavonoides no OE obtido pelo sistema *Clevenger*. Além disso, o OE de hortelã pimenta tem baixíssima quantidade de terpenos com anel aromático

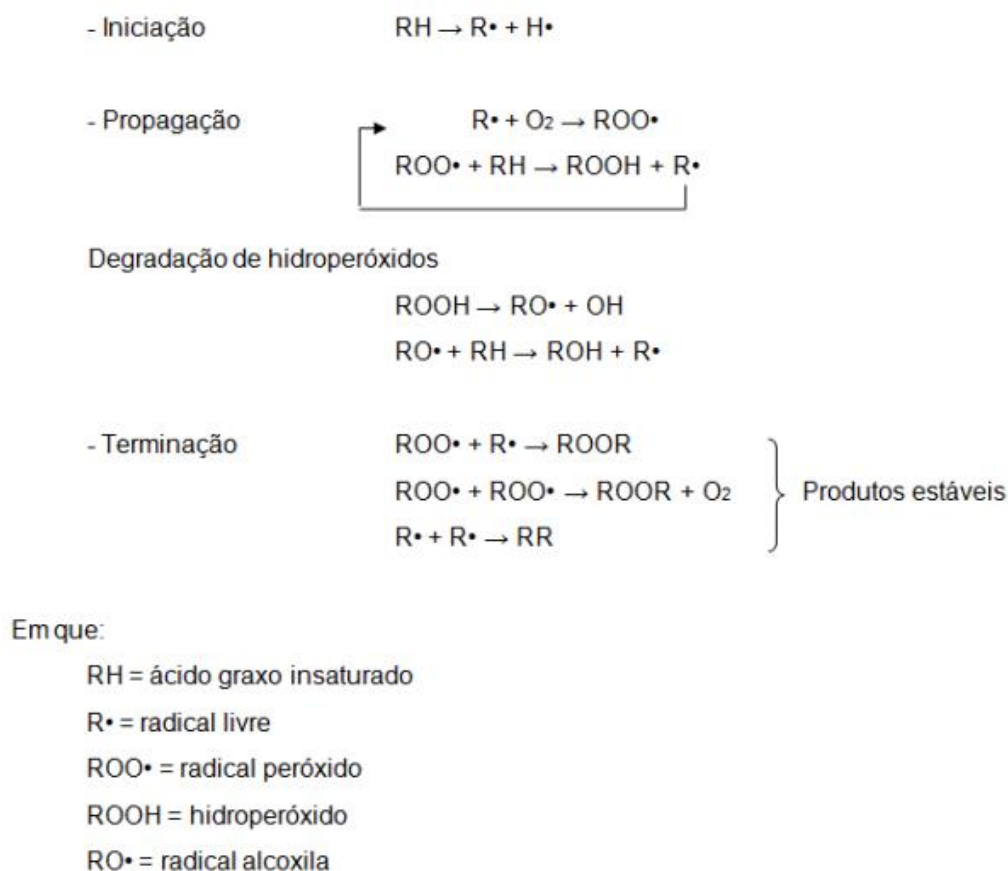
(GÜNTERT et al., 2001; CHEN *et al.*, 2011). Em relação às tisanas as amostras obtiveram uma média de  $2,38 \pm 0,39 \text{ mg g}^{-1}$  que é mais que o dobro encontrado na média dos óleos que foi de  $0,98 \pm 0,11 \text{ mg g}^{-1}$ . A Marca que teve a maior quantidade de fenólicos nas tisanas foi a Marca 3 ( $2,80 \pm 0,28 \text{ mg g}^{-1}$ ) seguida da Marca 2 ( $2,53 \pm 0,34 \text{ mg g}^{-1}$ ); da Marca 1 ( $2,44 \pm 0,22 \text{ mg g}^{-1}$ ); da Marca 4 ( $2,41 \pm 0,27 \text{ mg g}^{-1}$ ) e Marca 5 ( $1,73 \pm 0,24 \text{ mg g}^{-1}$ ). ZENGH (2001), em seu estudo, analisando o teor de compostos fenólicos de mais de 15 plantas, encontrou um valor de  $2,26 \pm 0,16 \text{ mg g}^{-1}$  na folha de hortelã pimenta, valor esse que coincide com o encontrado nesse trabalho. NICKAVAR (2008) analisou 5 espécies de *Mentha*, e encontrou valores para *M. longifolia*  $2,88 \pm 0,12$ ; *M. Piperita*  $4,34 \pm 0,19$ ; *M. Pulegium*  $3,58 \pm 0,16$ ; *M. rotundifolia*  $3,31 \pm 0,07$ ; *M. spicata*  $1,51 \pm 0,05 \text{ mg g}^{-1}$ , tendo a *M. piperita* a maior quantidade de compostos fenólicos. O valor encontrado nesse estudo em relação à hortelã pimenta, se encontra maior do que o encontrado no nosso estudo, porém quando comparamos com as outras espécies de *Mentha* o valor se assemelha. É importante enfatizar que a *Mentha piperita* já tem descrita 24 híbridos, fora os híbridos selvagens. Também é uma planta sujeita a poliploidia. Ainda temos as variações edafoclimáticas influenciando na composição da planta. Além do mais, NICKAVAR (2008) analisou a planta enquanto nesse trabalho foram analisados sachês de hortelã pimenta. Todos esses fatores podem ter contribuído para divergência entre nossos resultados e os do NICKAVAR (2008).

**Tabela 12.** Teor de Compostos Fenólicos Totais dos OE's e Tisanas das 5 Marcas Analisadas.

Marcas	OE ( $\text{mg g}^{-1}$ )	Tisana ( $\text{mg g}^{-1}$ )
1	$0,98 \pm 0,071$	$2,44 \pm 0,22$
2	$0,98 \pm 0,049$	$2,53 \pm 0,34$
3	$1,01 \pm 0,11$	$2,80 \pm 0,28$
4	$1,13 \pm 0,17$	$2,41 \pm 0,27$
5	$0,81 \pm 0,055$	$1,73 \pm 0,24$

### 5.3.3 Avaliação da Estabilidade Oxidativa do Óleo de Soja

A autooxidação é uma reação de radicais livres que como tal, ocorre em três etapas distintas. A primeira etapa é a inicialização, onde os radicais lipídicos (alcoxila e peroxila) são formados a partir de moléculas lipídicas. A separação de um átomo de hidrogênio por espécies reativas, como o radical hidroxila, pode conduzir à inicialização da oxidação lipídica. Na segunda etapa ocorrem as reações de propagação, na qual ocorre a formação excessiva de peróxidos e radicais livres dos ácidos graxos. Essas reações geralmente envolvem a eliminação de um átomo de hidrogênio de uma molécula lipídica ou a adição de oxigênio para um radical alquila. Na terceira etapa ocorrem as reações de término, nas quais os radicais livres se combinam para formar moléculas com uma gama completa de elétrons e são reações de baixa energia, mas são limitadas pela baixa concentração de radicais e pela exigência de radicais com a orientação correta para as suas reações colidirem (REGITANO-D'ARCE, 2006; REISCHE et al. 2008).

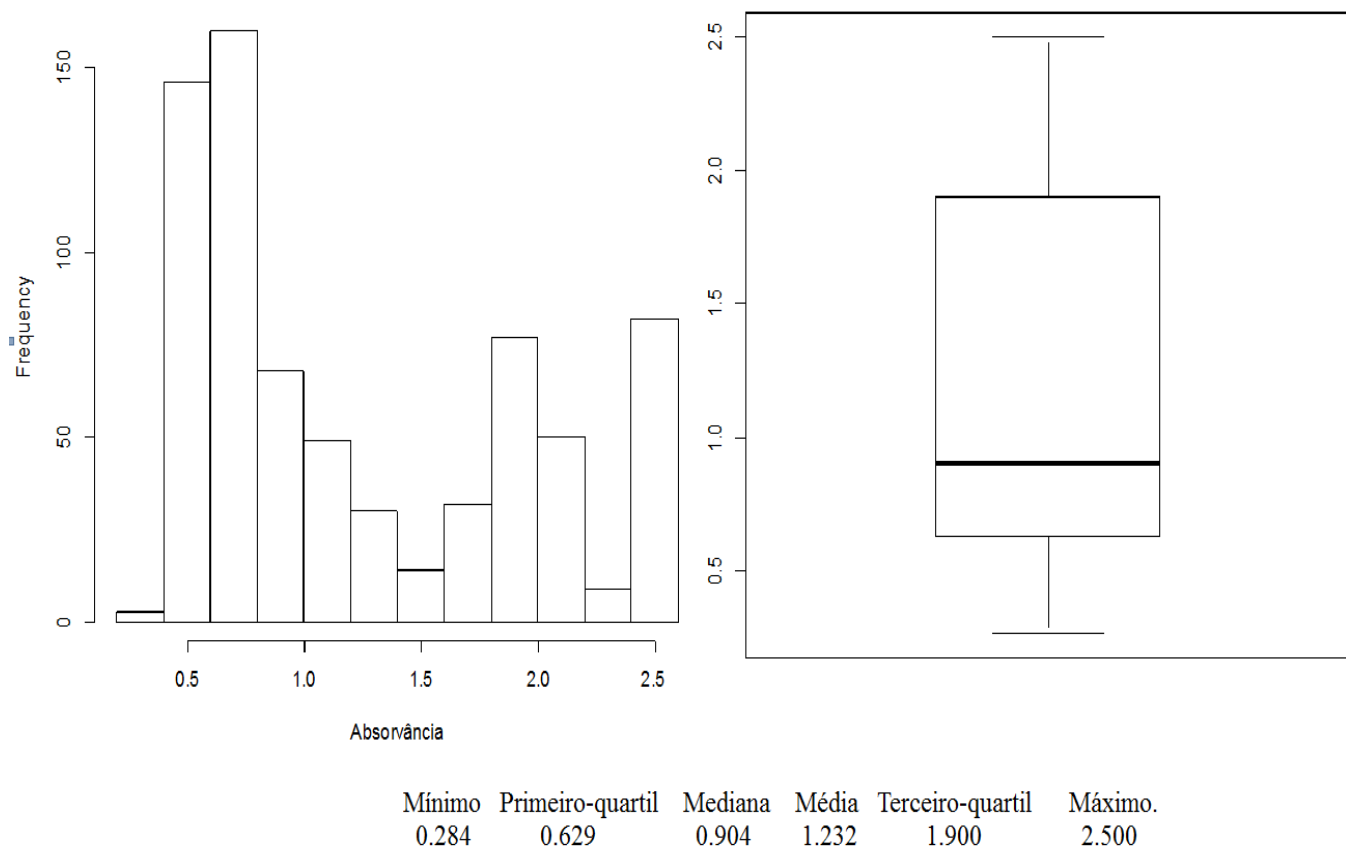


**Figura 6.** Esquema das Etapas da Auto-oxidação Lipídica.

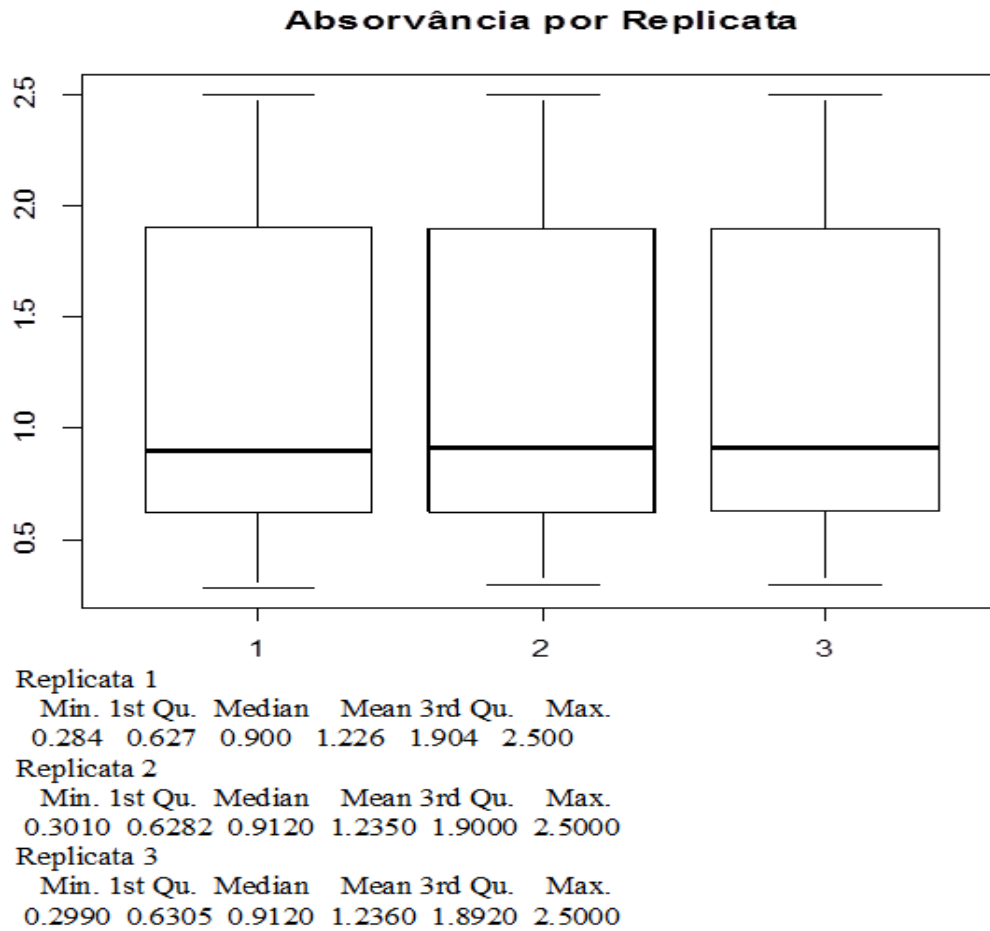
Fonte: Adaptado de Akoh e Min (2008)

A oxidação é uma das principais causas de degradação de lipídeos, principalmente em alimentos, tornando esses impróprios para o consumo, gerando compostos secundários potencialmente tóxicos e de odor e sabor desagradáveis, além de degradar vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais (RAMALHO & JORGE, 2006; OLIVEIRA et.al., 2009). Com o intuito de reduzir a autooxidação de óleos vegetais, são usadas substâncias antioxidantes que retardam o processo de oxidação através do protelamento da etapa de iniciação, da inibição da etapa de propagação ou mesmo acelerando a etapa de terminação como fazem alguns terpenos. Também é possível se retardar o processo de auto-oxidação inibindo pró-oxidantes metálicos como fazem alguns quelantes ácidos fenólicos. Essa ação antioxidante reduz a formação de produtos como os peróxidos e dienos conjugados. Os dienos conjugados não ocorrem em grandes quantidades em ácidos graxos insaturados, como é o caso do óleo de soja, porém são formados durante a oxidação. (ANTOLOVICH et al., 2002 ; MOON; SHIBAMOTO, 2009). Portanto, o óleo vegetal é uma matriz interessante para se desenhar estudos que avaliem o poder antioxidante de uma substância ou uma misturas delas. O método realizado nesse estudo tem como base a determinação de dienos conjugados, formados durante os estágios iniciais da formação de hidroperóxidos, sendo sua medida realizada pela leitura de absorvância espectrofotométrica em UV (KRISTTOT, 2000), na faixa 230-235 nm, na qual se absorvem predominantemente os dienos conjugados (DOBARGANES; VELASCO, 2002).

Na análise de autooxidação de óleo de soja, foram consideradas 720 observações de absorvância divididas em dois experimentos independentes com 360 observações cada. Foram realizadas observações em 4 dias não consecutivos de leituras diferentes (0, 5, 10, 15 dias), em triplicata, para cada uma das 6 combinações nas 5 marcas diferentes. Os valores de absorvância variaram de 0 à 2,500, que é o de valor máximo de leitura do aparelho. A Figura 7 mostra um Histograma e um *Boxplot* da absorvância considerando os dois experimentos, todas as marcas e os 4 dias de leitura, ou seja, demonstra um perfil geral dos resultados de absorvância do estudo. Foi encontrado um valor mínimo de absorvância de 0,284, um valor máximo de 2,500 e uma média de 1,232. A Figura 8 mostra um gráfico *Boxplot* onde foi analisado se a absorvância das replicatas realizadas no estudo diferem significativamente. Esse teste foi realizado para saber se todos os resultados de triplicatas seriam utilizados nos cálculos, ou se algum dado seria excluído. Foi identificado que as replicatas não diferem significativamente entre si ( p-value = 0,9809).



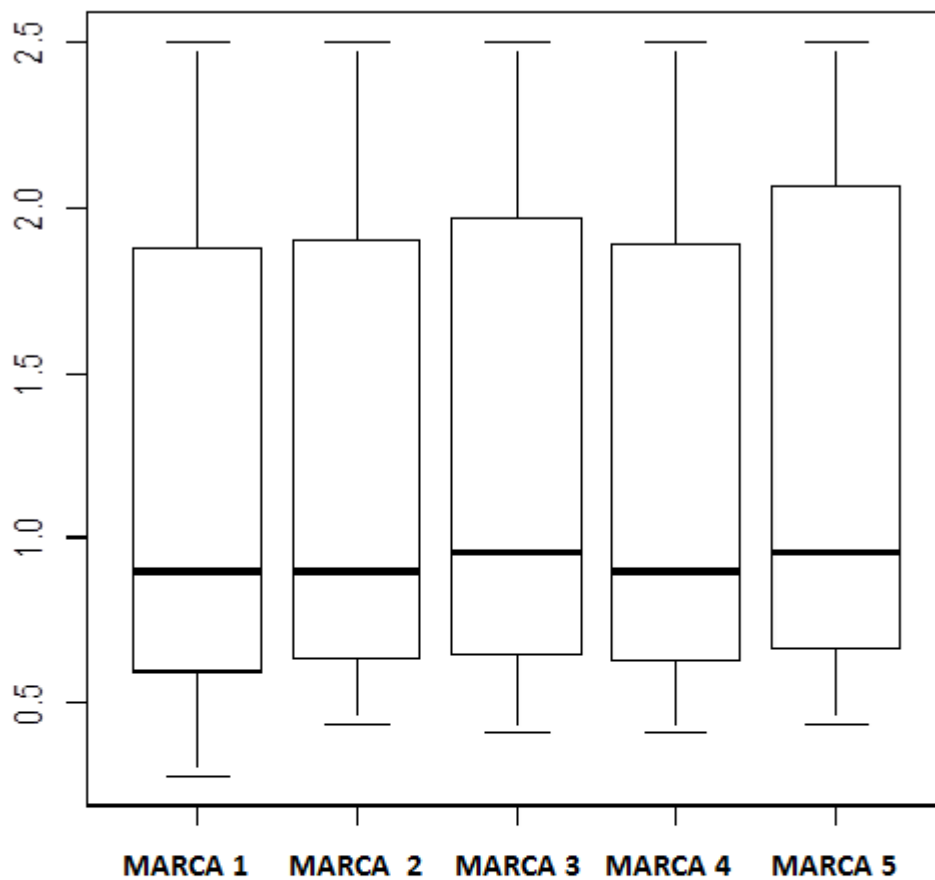
**Figura 7.** Histograma e *Boxplot* Considerando Todas as Absorvâncias da Análise.



**Figura 8.** Absorvância por Replicata

Quando analisamos as 5 Marcas em relação a absorvância, conforme Figura 9 percebemos que as Marcas não diferem entre si (*Kruskal-Wallis p-value* = 0,3184). Na análise de absorvância pelos 4 dias de leitura, nós podemos perceber que as leituras são muito diferentes entre si (*Kruskal-Wallis p-value* < 2,2. 10<sup>-16</sup>), conforme figura 11.

### Absorvância por Marca



MARCA 1

Min. 1st Qu. Median Mean 3rd Qu. Max.  
0.2840 0.5978 0.8995 1.1690 1.8710 2.5000

MARCA 2

Min. 1st Qu. Median Mean 3rd Qu. Max.  
0.4380 0.6378 0.9020 1.2020 1.9000 2.5000

MARCA 3

Min. 1st Qu. Median Mean 3rd Qu. Max.  
0.4130 0.6465 0.9550 1.2710 1.9630 2.5000

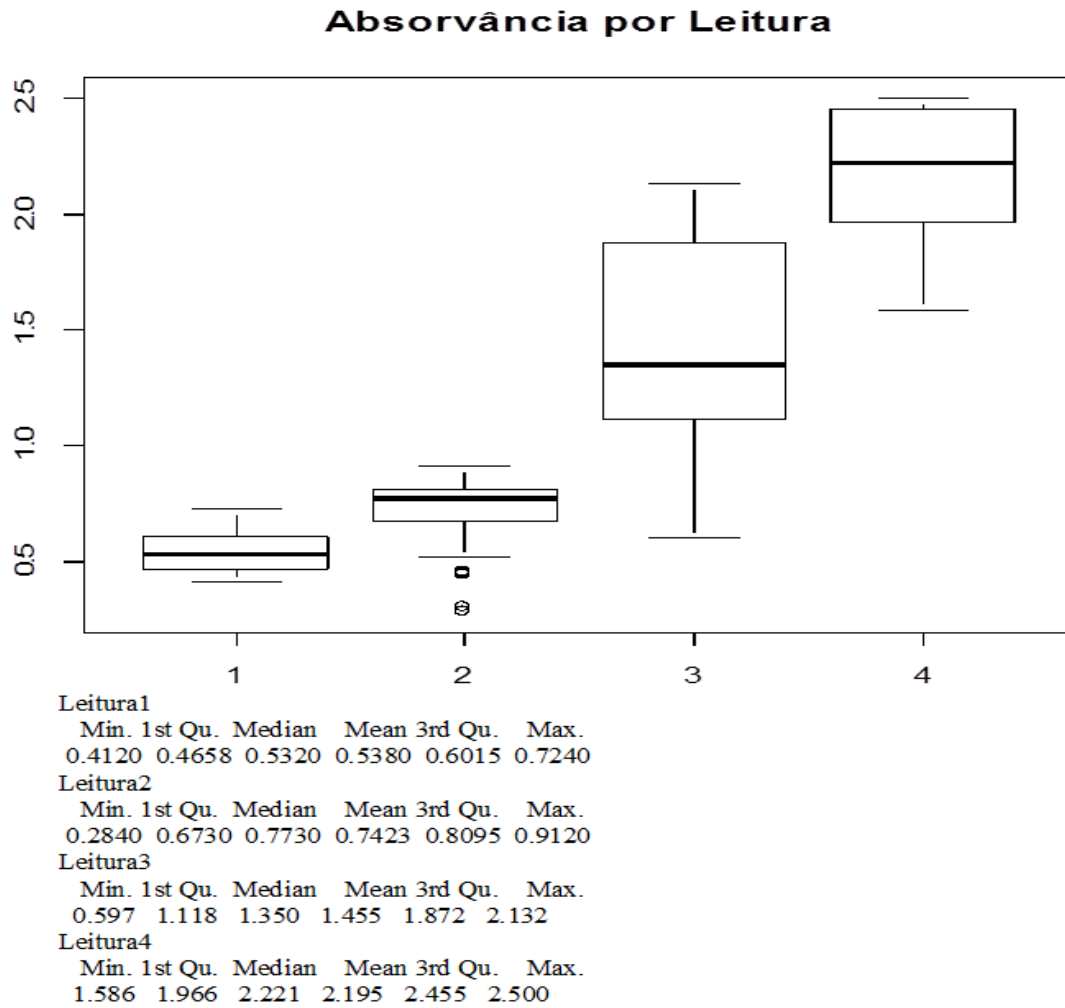
MARCA 4

Min. 1st Qu. Median Mean 3rd Qu. Max.  
0.4120 0.6305 0.9020 1.2170 1.8870 2.5000

MARCA 5

Min. 1st Qu. Median Mean 3rd Qu. Max.  
0.4390 0.6663 0.9605 1.3030 2.0530 2.5000

**Figura 9.** Absorvâncias por Marca.



**Figura 10.** Absorvância por Leitura.

Na análise de absorvância por Marca não foi encontrado diferença entre as 5 Marcas analisadas, quando analisamos a absorvância por marca e incluímos a leitura (Figura 11) as 5 marcas continuam sem apresentar diferença entre si. (*Kruskal-Wallis* Leitura 1 p-valor = 0,1567; Leitura 2 p-valor = 0,05604; Leitura 3 p-valor = 0,05604 e Leitura 4 p-valor = 0,5392).



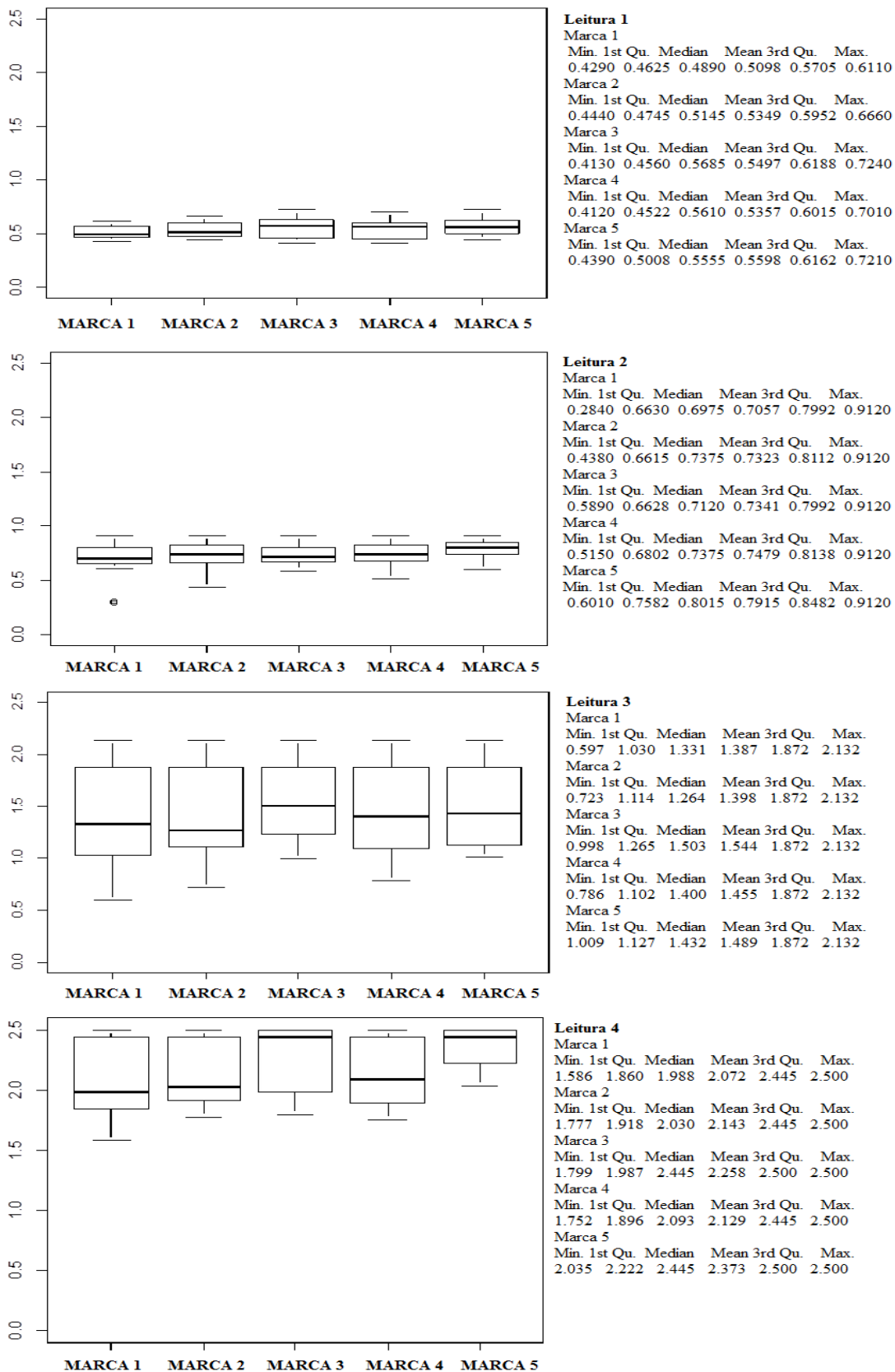
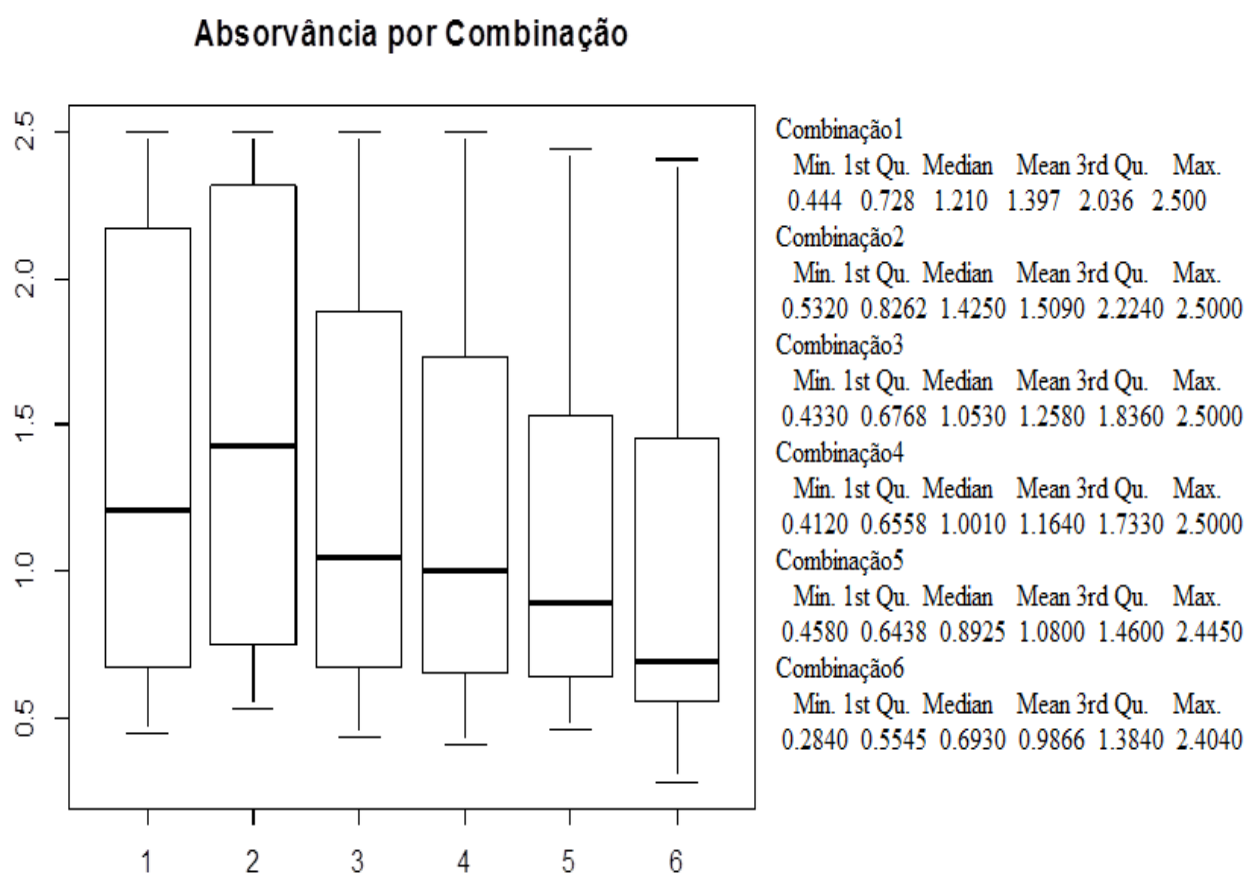


Figura 11. Absorvância por Marca.

Foram realizadas 6 combinações diferentes para as análises (Combinação 1: óleo de soja + etanol; Combinação 2: óleo de soja + etanol + palmitato; Combinação 3: óleo de soja + etanol + OE; Combinação 4: óleo de soja + etanol + OE + palmitato; Combinação 5: óleo de soja + etanol + tisana; Combinação 6: óleo de soja + etanol + tisana + palmitato), quando avaliamos essas 6 combinações com suas absorvâncias ( Figura 12) percebemos que elas possuem diferenças entre si (*Kruskal-Wallis* p-valor = 2,475. 10<sup>-9</sup>), então foi realizado um tratamento estatístico comparando cada combinação dessa dois a dois conforme Tabela 13.



**Figura 12.** Absorvância por Combinação.

**Tabela 13.** Comparação de Combinações dois a dois.

<b>Combinação dois a dois</b>	<b>p-valor</b>	
<b>Combinação 1 + Combinação 2</b>	p-valor = 0,002474	Diferem significativamente
<b>Combinação 1 + Combinação 3</b>	p-valor = 0,2079	Não diferem significativamente
<b>Combinação 1 + Combinação 4</b>	p-valor = 0,0706	Não diferem significativamente
<b>Combinação 1 + Combinação 5</b>	p-valor = 0,01646	Diferem significativamente
<b>Combinação 1 + Combinação 6</b>	p-valor = $2,805 \cdot 10^{-5}$	Diferem significativamente
<b>Combinação 2 + Combinação 3</b>	p-valor = 0,003847	Diferem significativamente
<b>Combinação 2 + Combinação 4</b>	p-valor = 0,0004038	Diferem significativamente
<b>Combinação 2 + Combinação 5</b>	p-valor = $1,943 \cdot 10^{-5}$	Diferem significativamente
<b>Combinação 2 + Combinação 6</b>	p-valor = $5,686 \cdot 10^{-9}$	Diferem significativamente
<b>Combinação 3 + Combinação 4</b>	p-valor = 0,2474	Não diferem significativamente
<b>Combinação 3 + Combinação 5</b>	p-valor = 0,04053	Diferem significativamente
<b>Combinação 3 + Combinação 6</b>	p-valor = 0,0001061	Diferem significativamente
<b>Combinação 4 + Combinação 5</b>	p-valor = 0,2121	Não diferem significativamente
<b>Combinação 4 + Combinação 6</b>	p-valor = 0,001728	Diferem significativamente
<b>Combinação 5 + Combinação 6</b>	p-valor = 0,01261	Diferem significativamente

Quando comparamos somente a absorvância com as combinações dois a dois nós temos que a combinação 1 difere da combinação dois, o que era de se esperar pois a combinação 2 contem palmitato férrico que é pró-oxidante. De um modo geral, a fração OE apresentou atividade antioxidante limitada, ou seja, em algumas combinações houve diferença significativa e em outras não. Já a fração tisana mostrou marcante atividade antioxidante, já que em todas as combinações ocorreram diferenças significativas, exceto na combinação 4 + combinação 5. Esse resultado atípico pode ter ocorrido em função do fato de que nessa tabela são apresentados os resultados dos quatro dias em conjunto. Quando foi considerado cada dia individualmente, como será visto na tabela a seguir (Tabela 14), somente no tempo zero as duas combinações não diferiram significativamente. Na prática, o tempo corresponde a situação de menor taxa de autooxidação do óleo de soja.

**Tabela 14.** Comparação de Combinações dois a dois por Leitura.

	Leitura 1		Leitura 2		Leitura 3		Leitura 4	
Combinação Dois a Dois	p-valor		p-valor		p-valor		p-valor	
Combinação 1 + Combinação 2	= 2,063 . 10 <sup>-7</sup>	≠	= 2,397. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 2,595. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 4,12. 10 <sup>-10</sup>	≠
Combinação 1 + Combinação 3	= 0,02916	≠	= 0,01206	≠	= 2,095. 10 <sup>-9</sup>	≠	= 0,0001754	≠
Combinação 1 + Combinação 4	= 0,2532	=	= 0,0008765	≠	= 1,238. 10 <sup>-10</sup>	≠	= 4,373. 10 <sup>-6</sup>	≠
Combinação 1 + Combinação 5	= 0,0385	≠	= 1,52. 10 <sup>-8</sup>	≠	= 2,795. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 2,097. 10 <sup>-10</sup>	≠
Combinação 1 + Combinação 6	= 0,0384	≠	= 8,194. 10 <sup>-10</sup>	≠	= 2,8. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 2,031. 10 <sup>-11</sup>	≠
Combinação 2 + Combinação 3	= 0,5586	=	= 2,582. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 2,8. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 1,907. 10 <sup>-10</sup>	≠
Combinação 2 + Combinação 4	= 0,1308	=	= 2,587. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 2,8. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 1,933. 10 <sup>-10</sup>	≠
Combinação 2 + Combinação 5	= 0,003132	≠	= 2,566. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 2,795. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 1,208. 10 <sup>-12</sup>	≠
Combinação 2 + Combinação 6	= 1,013. 10 <sup>-7</sup>	≠	= 2,584. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 2,8. 10 <sup>-11</sup>	≠	= 1,21. 10 <sup>-12</sup>	≠
Combinação 3 + Combinação 4	= 0,2904	=	= 0,5945	=	= 9,495. 10 <sup>-5</sup>	≠	= 0,007511	≠
Combinação 3 + Combinação 5	= 0,4964	=	= 0,01726	≠	= 3,96. 10 <sup>-8</sup>	≠	= 7,147. 10 <sup>-7</sup>	≠
Combinação 3 + Combinação 6	= 0,0006712	≠	= 1,008. 10 <sup>-8</sup>	≠	= 4,842. 10 <sup>-13</sup>	≠	= 2,337. 10 <sup>-8</sup>	≠
Combinação 4 + Combinação 5	= 0,9411	=	= 0,02065	≠	= 3,828. 10 <sup>-5</sup>	≠	= 0,02505	≠
Combinação 4 + Combinação 6	= 0,03384	≠	= 2,997. 10 <sup>-7</sup>	≠	= 2,1. 10 <sup>-8</sup>	≠	= 0,000183	≠
Combinação 5 + Combinação 6	= 0,0003175	≠	= 4,42. 10 <sup>-7</sup>	≠	= 0,01076	≠	= 0,02918	≠

Quando se trata de cada dia individualmente, é possível observar uma tendência a partir do segundo dia de leitura (quinto dia), na qual a estabilidade oxidativa do óleo de soja é influenciada positivamente tanto pela inclusão da tisana como também pela fração OE, o que difere dos resultados obtidos com o conjunto (tabela 13). Todavia, prevalece o maior poder antioxidante da tisana em relação ao OE. De um modo geral, o OE de hortelã pimenta apresenta modesta atividade antioxidante comparado a outros OE's, como por exemplo, o OE de cravo (GHARIB & SILVA, 2013; TSAI et al., 2013; LIZA & DE MARIA, 2015). Em alguns casos inclusive ele pode ter ação pró-oxidante em função da presença de linalol e outros terpenos insaturados que geram radicais alquila do próprio esqueleto do hidrocarboneto (AMORATI ET AL. 2013). Por outro lado, a presença de grupos metileno na estrutura de terpenos insaturados, tais quais, tepinoleno e  $\alpha$ -terpineno, que apresentam estrutura de ciclohexadieno, favoreceriam a etapa de terminação do processo de autooxidação (ROBERTO & BARATTA, 2000; AMORATI et al. 2013 ). Esses compostos são chamados de terminadores de cadeia para distinguí-los dos quebradores de cadeia, os quais atuam na etapa de propagação.

O uso da matriz óleo vegetal para estudos de atividade antioxidante apresenta algumas limitações. Em primeiro lugar, o óleo vegetal é constituído de uma única macromolécula o triacilglicerol e, portanto, outras macromoléculas tais quais, as proteínas e os ácidos nucleicos, que também se submetem a oxidação não são levadas em conta. Também há antioxidantes naturais presentes no óleo vegetal, como por exemplo, o tocoferol, que confere proteção antioxidante natural ao óleo. O fato de o estudo incluir grupo controle, como por exemplo, o óleo de soja puro e o óleo de soja com palmitato minimiza o possível viés ocasionado pela presença de tocoferol, porém não se pode descartar uma ação sinérgica entre a tisana ou o OE com o tocoferol que poderia diferir da ação isolada da tisana ou do OE. Obviamente o OE e, sobretudo, a tisana conferiram proteção antioxidante ao óleo de soja, já que o acúmulo de dienos conjugados foi significativamente menor no óleo de soja tratado em relação ao óleo de soja sem adição de tisana ou OE. Em outras palavras, a interpretação dos experimentos com óleo de soja pode no mínimo indicar que a adição de OE ou tisana potencializou a ação antioxidante do tocoferol naturalmente presente no óleo de soja, e, que, essa potencialização foi mais marcante na tisana.

Ao se comparar todos os métodos usados nesse estudo para avaliar o poder antioxidante das frações tisana e OE é possível observar uma tendência comum. É importante enfatizar que o método de *Folin-Ciocalteu* mede o conteúdo total de fenólicos e que há uma correlação na qual quanto maior o conteúdo de fenólicos totais maior será o poder antioxidante. Entretanto, isso não pode ser considerado uma regra geral, e, absolutamente, esse valor isolado não é representativo do poder antioxidante de uma fração, já que o conteúdo de fenólicos totais mostra apenas uma habilidade redutora da matriz (AMORATI ET AL., 2013). O mesmo se sucede com o DPPH. Aliás, no caso do OE de hortelã pimenta, a descoloração do DPPH pode ser atribuída ao  $\alpha$ -pineno, ao linalol e outros terpenos insaturados pró-oxidantes. De fato, a entalpia de dissociação da ligação C-H do  $\alpha$ -pineno ( $80 \text{ Kcal mol}^{-1}$ ) é próxima à entalpia de ligação do DPPH ( $78,9 \text{ Kcal mol}^{-1}$ ), indicando que a transferência do próton do  $\alpha$ -pineno é termodinamicamente possível (AMORATI & FOTI, 2012; AMORATI et al., 2013), confundindo a interpretação da atividade antioxidante do OE. Quando se olha os resultados em conjunto, observa-se que a tisana tem maior atividade antioxidante do que o OE, porque tem maior conteúdo de fenólicos totais, descolora mais rápido o DPPH e aumenta a estabilidade oxidativa do óleo de soja.

Ao analisar-se cada fração individualmente é possível obter-se algumas informações. Os OE's dos sachês de hortelã pimenta estudados nesse trabalho mostraram modesta atividade antioxidante quando comparado à tisana. Embora alguns pró-oxidantes tenham sido identificados na fração OE (Tabela 7), também foi possível observar alguns terpenos antioxidantes, como por exemplo, o terpineno. A composição química complexa de um OE pode proporcionar efeitos sinérgicos entre diversos compostos que poderiam ser cruciais para a propriedade antioxidante do OE da hortelã pimenta. Obviamente, parâmetros edafoclimáticos e diferentes híbridos, já que é a hortelã pimenta está sujeita a poliploidia, e outros fatores podem influenciar na composição do OE e, portanto, ora poderia haver um desbalanço em favor de terpenos antioxidantes, ora um desbalanço favorável aos terpenos pró-oxidantes. Nesse estudo, o OE dos sachês de hortelã pimenta apresentou, como já dito anteriormente, modesta atividade antioxidante.

Já a tisana mostrou indubitavelmente atividade antioxidante maior do que o OE em todas as técnicas usadas nesse trabalho. Conforme relato da literatura os compostos fenólicos mais abundantes achados na hortelã pimenta são: derivados da eriocitrina, ácido rosmarínico (dímero do ácido caféico) e derivados da luteolina e em menor extensão o ácido cafeico. Na realidade, 40 compostos fenólicos já foram identificados na hortelã pimenta, no qual vários são reconhecidamente antioxidantes primários (MEKINIC et al., 2014; FARNAD & HEIDARI & ASLANIPOUR, 2014; LIZA; RIACHI & DE MARIA, 2015). Oh et al. (2013) achou que a atividade antioxidante do chá verde (*Camellia sinensis*) foi significativamente maior ( $p < 0.05$ ) que a da hortelã pimenta. Entretanto, a hortelã pimenta mostrou maior habilidade quelante de íon férrico. Este resultado pode ser devido à presença de antioxidantes secundários, tais quais, ácidos rosmarínico e caféico. A presença de um grupo 3,4-orto-dihidroxila é responsável por ligar metais de transição. Os compostos ácidos fenólicos desestabilizam o complexo ferrozina através da captura do precursor do íon ferroso (CHAN, LI, CHONG, TAN & WONG, 2010). Os agentes queladores que formam uma ligação  $\sigma$  com o metal de transição são efetivos antioxidantes secundários, já que eles reduzem o potencial redox e, portanto, estabilizam a forma oxidada do íon metálico (Gordon, 1990). Obviamente, a distribuição desses compostos fenólicos é influenciada por condições edafoclimáticas e pela genética que modulam o metabolismo secundário da planta (KAPP et al., 2013).

Algumas funções biológicas de interesse são atribuídas a compostos fenólicos individuais presentes na hortelã pimenta. A luteolina, por exemplo, melhora a inflamação induzida por lipopolissacarídeo (PARK & SONG, 2013). Metabólitos da eriocitrina, como por exemplo, eriodictol, mostraram forte potencial antioxidante e influenciaram positivamente o sistema enzimático glutathione (WANG, FAN et al., 2013).

## 6. CONCLUSÃO

- O OE dos saches de hortelã pimenta analisados possuem um rendimento inferior ao do OE da planta *in natura* descrito na literatura;
- Na análise da composição química do OE dos saches de hortelã pimenta encontrou-se um perfil qualitativo semelhante ao do OE da planta *in natura*, porém quando se comparou o perfil quantitativo, alguns compostos ficaram fora do preconizado pela Farmacopéia Brasileira e em desacordo com outros trabalhos similares. A água condensada também apresentou as mesmas características que o OE, confirmando que existe ainda algum vestígio de óleo nessa fração;
- A análise de CG/O demonstrou correlação com a análise do CG/MS, sendo descrita a percepção odorífera de 51% dos compostos presentes no OE;
- Em relação ao poder antioxidante via DPPH, as amostras de tisana obtiveram um valor bem superior as amostras de OE;
- A tendência se repetiu na análise de Fenólicos Totais, o que já era de se esperar devido à presença de compostos fenólicos no extrato aquoso, que não estão presente no OE;
- Na estabilidade oxidativa do óleo de soja, ambas as frações apresentaram poder antioxidante, conseguindo diminuir a autooxidação, entretanto a tisana apresentou atividade antioxidante significativamente (teste de *Wilcoxon* e teste de *Kruskal-Wallis*) maior do que a do OE.



## 7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. **Estudo do poder oxidante em infusões de ervas utilizadas como chás**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul, 2013.

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Illinois: **Allured Publishing Corporation**, 804p. 2007.

AFLATUNI, A.. **The yield and essential oil content of mint (*Mentha ssp.*) in Northern Ostrobothnia**. (<http://herkules.oulu.fi/> isbn9514277465/), Oulu University Press, Finland, 52 p. 2005.

AKOH, C. C., David B. Min, eds. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. CRC Press, 2008.

AL-GUBORY, K.; FOWLER, P.; GARREL, C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 42:, p. 1634-1650, 2010.

ALARCON, E.; CAMPOS, A.M.; EDWARDS, A.M.; LISSI, E.; LOPEZ-ALARCON, C. Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: A comparison of ORAC-fluorescein and ORAC- pyrogallol red methodologies. **Food Chemistry**, v. 107, n.3, p. 1114-1119, 2008.

ALMEIDA I.F. **Desenvolvimento de sistemas semi-sólidos contendo fitocompostos captadores de espécies reativas**. Tese de doutorado, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto; 2009.

ALONSO R.J. Tratado de fitomedicina-bases clínicas e farmacologicas. **Ed. Isis, Buenos Aires**, 1998.

AMORATI, R., & FOTI, M. C. Oxidative stability and antioxidant properties of essential oils. In L. Valgimigli (Ed.), Essential oils as natural food additives. **New York: Nova Science Publishers**. (pp. 75–95). 2012.

AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant activity of essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, EUA, v. 61, p. 10835 – 10847, 2013.

ANGELO, P., JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 1-9, 2007.

ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P. D., PATSALIDES, E., MCDONALD, S., & ROBARDS, K. **Methods for testing antioxidant activity**. *Analyst*, 127(1), 183-198. 2002.

ANTUNES R.B. **Avaliação do efeito da digestão in vitro na capacidade antioxidante de infusões medicinais: Flor de Camomila e Flor de Laranjeira**. Tese de Doutorado, Universidade Nova de Lisboa, setembro, 2012.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, volume 1 e 2. 5ª Ed. Brasília, 2010.

ARAÚJO B.C. **Efeito protetor do chá verde (Camelli sinensis) contra a ação genotóxica da doxorubicina em células somáticas de Drosophila melanogaster**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Uberlândia. Minas Gerais, 2008.

ARIAS, L. **Avaliação da atividade antioxidante in vitro de extratos de erva-mate (Ilex paraguariensis) verde e tostada e chá verde (Camellia sinensis)**. Tese de mestrado em Saúde Pública. Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BEHN, H.; ALBERT, A.; MARX, F.; NOGA, G.; ULBRICH, A. Ultraviolet. B and photosynthetically active radiation interactively affect yield and pattern of monoterpenes in leaves of peppermint (*Mentha x piperita* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.7361-7367, 2010.

BENN, S. Potent odorants in peppermint and cornmint oils characterized by GC-O and AEDA. **Perfumer & Flavorist**, EUA, n. 23, p. 5 – 16, 1998

BENZIE, I.; WACHTEL, S. Herbal medicine – biomolecular and clinical aspects. 2nd edition, **CRC Press**. New York, 2011

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

BLUMENTHAL, M.; BUSSE, W.R.; GOLDBERG, A. The complete German Commission E Monographs –Therapeutics Guide to herbal medicines. **American Botanical Council**, Austin (Eds) (1998).

BORGES L.L; LUCIO T.C.; GIL E.S; BARBOSA E.F. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopedia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiania, v.7, n.12, 2011.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007

BRASIL. Regulamento Técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis. Resolução de Diretoria Colegiada –RDC nº 277, de 22 de setembro de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BRITTO, K.C. **Efeito do tempo de infusão sobre a atividade antioxidante e compostos fenólicos totais em amostras comerciais de chás verde e preto**. Monografia. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2013

CAÑIGUERAL, S. Las monografías de calidad, seguridad y eficacia en el uso racional de los preparados a base de plantas medicinales. **Revista de Fitoterapia**, v. 6, p. 25-29, 2006.

CAÑIGUERAL, S.; DELLACASA, E.; BANDONI, A. Plantas medicinales y Fitoterapia; indicadores de Dependência o Factyores de desarrollo?. **Acta Farmaceutica Bonaerense**; v. 22, n.3, 2003.

CARDOSO, M.G.; SHAN, A.Y.K.V.; PINTO, J.E.B.P.; FILHO, N.D.; BERTOLUCCI, S.K.V. **Metabólitos secundários vegetais: visão geral química e medicinal**. Universidade Federal de Lavras. 2004.

CARVALHO A. M., MORALES, R. Persistence of Wild Food and Wild Medicinal Plant Knowledge in a North-Eastern Region of Portugal. **Berghahn Books**. Portugal ,v.14, p. 147-157, 2010.

CARVALHO, C. C. R.; FONSECA, M. M. R. Carvone:Why and how should one bother to produce this terpene. **Food Chemistry**, v.95, p.413-422, 2006.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M.; LEWIS, N.G. Natural products (secondary metabolites).In: Biochemistry & molecular biology of plants. **Rockville: Courier Companies**, p. 1250-1318. 2000.

CHAN, E. W. C., LIM, Y. Y., CHONG, K. L., TAN, J. B. L., & WONG, S. K. (2010). Antioxidant properties of tropical and temperate herbal teas. **Journal of Food Composition and Analysis**, 23, 185–189

CHEN, M. Z.; TRINNAMAN, L.; BARDSLEY, K.; ST HILAIRE, C. J.; DA COSTA, N. C. Volatile compounds and sensory analysis of both harvests of double-cut Yakima peppermint (*Mentha piperita* L.). **Journal of Food Science**, EUA, v. 76, n. 7, p. 1032- 1038, 2011.

CLARK, R. J.; MENARY, R. C. Variations in composition of peppermint oil in relation to production areas. **Economic Botany**, EUA, v. 35, p. 59 – 69, 1981

COSTA, A. G., CHAGAS, J. H. PINTO, J. E. B. P.. BERTOLUCCI, S. K. V., Crescimento vegetativo e produção de óleo essencial de hortela-pimenta cultivada sob malhas. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.47, n.4, p.534-540, abr. 2012.

CÓRDOVA A.; NAVAS F.J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. **Rev. Bras. Med. Esporte**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 5, 2000.

CUNHA, A. P.; TEIXEIRA, F.J.; SILVA A. P.; ROQUE, O. R. Fitoterapia na atualidade. Ed: Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia. **Fundação Calouste Gulbenkian**. Lisboa, p. 21-25, 2003.

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

DE MEJIA, E.G.; SONG, Y.S.; HECK, C.I.; RAMIREZ-MARES, M. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): Phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation. **Journal of Functional Foods**, v. 2, n.1, p. 23-34, 2010.

DERWICH, E., R. CHABIR, R. TAOUIL AND O.SENHAJI, . In vitro antioxidant activity and GC/MS studies on the leaves of *Mentha piperita* (Lamiaceae) from Morocco. In: International, **Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, 3: 130-136, 2011.

DEY, P.M. ; HARBORNE, J.B. Plant biochemistry. **San Diego: Academic Press**, 554 p,1997.

DOBARGANES, M. Carmen; VELASCO, José. Analysis of lipid hydroperoxides. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 2002, 104.7: 420-428.

DORMAN, D.H.J., M. KOSAR, K. KAHLOS, Y. HOLM AND R. HILTUNEN. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. **In: J. Agric. Food Chem.**, 51: 4563-4569. 2003.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Rev Physiology**, v.82, p.47-95, 2002.

DUBAND, F.; CARNAT, A. P.; CARNAT, A.; PETITJEAN-FREVTET, C.; CLAIR, C.; LAMAISON, J. L. Composition aromatique et polyphénoliques de l'infusé de Menthe, *Mentha x piperita* L. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, França, v. 50, n. 3, p. 146 – 155, 1992.

FANG, M.Z.; WANG, Y.; AI, N.; HOU, Z.; SUN, Y. LU, H.; WELSH, W.; YANG, C.S. Tea Polyphenol (–)-Epigallocatechin-3-Gallate Inhibits DNA Methyltransferase and Reactivates Methylation-Silenced Genes in Cancer Cell Lines. **Cancer Research**, v.63, p.7563–7570, 2003.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA: 5ª. Edição. São Paulo: Editora Atheneu, parte II, quarto fascículo, 2000.

FARNAD, N., HEIDARI, R., & ASLANIPOUR, B. Phenolic composition and comparison of antioxidant activity of alcoholic extracts of peppermint (*Mentha piperita*). *Food Measure*, 8, 113–121, 2014.

FERGUSON, L.R. (2001). Role of plant polyphenols in genomic stability. **Mutation Research**, v. 475, p. 89-95, 2001.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**. São Paulo, v.43, n.1, p. 61-68. 1997.

FERREIRA, I.C.F.R.; ABREU, R.M.V. **Estresse Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos**. *Bioanálise*, v.4, n.2, p. 32-39, 2007.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. A Fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v. 33, n.9, p. 1829, 2010.

FHAN, A. secretary an tissue in plants, London: **Academic Press**, 1979

FINGER, A.; KUHR, S.; ENGELHARDT, U.H. Chromatography of tea constituents. **Journal of chromatography**. v.624, p. 293-315, 1992.

FINLEY J.W.; KONG A.N.; HINTZE K.J.; JEFFERY E.H.; JI L.L.; LEI X.G. Antioxidants in foods: state of the science important to the food industry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p. 6837–6846, 2011.

FRÉROT, E.; BAGNOUD, A.; VUILLEUMIER, C. Menthofuroolactone: a new p-menthane lactone in *Mentha piperita* L.: analysis, synthesis and olfactory properties. **Flavour Fragrance Journal**, Reino Unido, v. 17, p. 218 – 226, 2002.

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**, 7(1), 19–27, 2013.

GRISI, M. C. C., Avaliação de Genótipos de Menta (*Mentha* spp) nas condições do Distrito Federal, Brasília. **Ver. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.4, p.33-39, 2006.

Gruľová, Daniela, et al. "Seasonal Variation In DPPH Scavenging Activity Of *Mentha X Piperita*." **Advances In Environmental Biology** 6.4: 1477-1480, 2012.

GOERG, K.J. & SPILKER T.H. Effect of peppermint oil and caraway oil on gastrointestinal motility in healthy volunteers: a pharmacodynamic study using simultaneous determination of gastric and gall-bladder emptying and oro-caecal transit time. **Alimentary Pharmacological & Therapeutics** 17: 445, 2003.

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

GRUNWALD, J.; BRENDLER, T; JAENICKKE, C (Eds) (2000). Physician desk references (POR) for herbal medicines. New Jersey: Med. Econ.Co

GÜNTERT, M. et al. Flavor chemistry of peppermint oil (*Mentha piperita* L.). **Ed. American Chemical Society**. p. 119 – 137, 2001.

HALLIWELL, B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies?. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 476, p.107–112, 2008.

HALLIWELL, B.; GUITTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 3th ed. **Oxford Science Publications**, New York, p. 936, 2000.

KAPP, K., HAKALA, A. E., ANNE ORAV, A., POHJALA, L., VUORELA, P., PUSSA, T. Commercial peppermint (*Mentha \_ piperita L.*) teas: Antichlamydial effect and polyphenolic composition. **Food Research International**, 53(2), 758–766, 2013.

KIZIL, SÜLEYMAN, 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* 15. 2148-153, 2010.

KOTHARI, R. The indian essential oil industry. **Perfumer and flavorist**, v.30, p.46-50, 2005.

KRISTOTT, J. The Stability and Shelf life of Food, Fats and oils 279-309, 2000.

LAWRENCE, B. M. *Mint: The genus Mentha*. 1. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2006.

LAWRENCE, B. M., A review of the world production of essential oils. **Perfumer and flavourist**. Newsletters, v.10, n.76, 1985

LETIZIA C. S. et al. Fragrance material review on linalol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 943-964, 2003a.

LETIZIA C. S. et al. Fragrance material review on linalyl acetate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 965-976, 2003b.

LIMÓN-PACHECO, J.; GONSEBATT, M. **The role of antioxidants and antioxidants-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 67, p. 137-147, 2009.

LUZIA, M.R., TRUGO, L.C., PAIXÃO K.C.C., MARCÍLIO, R., MARIA C.A.B., QUINTEIRO, L.M.C. **Effect of 5-Caffeoylquinic Acid in the Presence of Metal Chelators on Soybean Oil Oxidative Stability. Lebensm.-Wiss. U.-Technol.**, 31, 64/68, 1998.



MATSUMOTO, R. **Atividade antioxidante de chá mate (*Ilex paraguariensis*)**. Tese de mestrado em Saúde Pública. Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

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

MEKINIC, I. G., SKROZA, D., LJUBENKOV, I., SIMAT, V., MOZINA, S. S., & KATALINIC, V. In vitro antioxidant and antibacterial activity of Lamiaceae phenolic extracts: a correlation study. **Food Technology and Biotechnology**, 52(1), 119–127, 2014.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. *Boletim.SBCTA*, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MELO, J.G.; NASCIMENTO V.T.; AMORIM E.L.C.; LIMA C.S.; ALBUQUERQUE U.P. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo, pata de vaca e ginko. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, n. 2, pag 111-120., 2004.

MÍMICA D.N., BOZIN B., SOKOVIC M., MIHAJLOVIC B., MATAVULJ M. Antimicrobial and antioxidant activities af there menthe species essential oils. **Planta Med. May**; 69(5):413-9, 2003.

Mint Industry Research Council. 2009. Available at <http://usmintindustry.org/> [accessed Feb. 2009; verifi ed 16 Nov. 2009].MIRC.

MONDAL, T. K.; BHATTACHARYA, A.; LAXMIKUMARAN, M; AHUJA, P. S. Recent advances of tea (*Camellia sinensis*) biotechnology. **Journal of Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 76, p 195, 2004.

MOON, J. K., & SHIBAMOTO, T. Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1655-1666, 2009.

MORAES S.A.R. **Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil.** Universidade de São Paulo. Piracicaba, São Paulo, 2007.

MORAIS A.L.F. **Propriedades Antioxidantes de Bebidas e Chás Preparados a partir de diferentes formulações.** Universidade do Porto. Porto, 2011.

MORAIS S.M.; CAVALCANTI E.S.B.; COSTA S.M.O.; AGUIAR L.A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Rev Bras Farmacogn.** v.19, p. 315-320, 2009.

NEVES L.C. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII BMCGB, p. 107-109, 2009.

NICKAVAR, B., A. ALINAGHI AND M. KAMALINEJAD,. Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. **In: Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, 7: 203-209, 2008.

NUNES, R. S. **Avaliação da atividade antioxidante e antimutagênica da acerola (*Malpighia glabra* L).** Dissertação de mestrado em Genética e Toxicologia Aplicada. Universidade Luterana do Brasil, p.85, 2007.

OH, J.; JO, H.; CHO, A. R.; KIM, S. J.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. **Food Control**, Europa, v. 31, p. 403 – 409, 2013.

OLIVEIRA, A., VALENTIM, I., GOULART, M., SILVA, C., BECHARA, E., & TRESIVAN, M. TS Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, 689-702.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p.689-702, 2009.

ORAV, A.; KANN, J. Determination of peppermint and orange aroma compounds in food and beverages. **Proceedings of the Estonian Academy of Sciences.** Chemistry, Estónia, v. 50, p. 217 – 225, 2001.

PARK, C. M., & SONG, Y.-S. Luteolin and luteolin-7-O-glucoside inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through modulation of NF- $\kappa$ B/AP-1/PI3K-Akt signaling cascades in RAW 264.7 cells. **Nutrition Research and Practice**, 7(6), 423–429, 2013.

PEANA, A. T. et al. (-)- Linalool inhibits in vitro NO formation: Probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound. **Life Science**, v.78, p.719-723, 2006.

PHATAK, S.; HEBLE, M. R. Organogenesis and terpenoid synthesis in *Mentha arvensis*. **Fitoterapia**, v.73, p.32-39, 2002.

PITTLER, M.H., ERNST, E., Peppermint oil for irritable bowel syndrome: a critical review and meta-analysis. **The American Journal of Gastroenterology** 93 (7),1131–1135, 1998.

RAMALHO, V. C., NEUZA J. "Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos." **Química Nova** 29.4 : 755, 2006.

RAZAVI, S. M.; NAZEMIYEH, H.; HAJIBOLAND, R.; KUMARASAMY, Y.; DELAZAR, A.; NAHAR, L.; SARKER, S. D. Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v 18, p. 1-5. 2008.

RIACHI, L.G.; ABI-ZAID I. E.; MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C. A. B. Volatile composition of peppermint (*Mentha piperita* L.) commercial teas through solid phase extraction. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Venezuela, v. 62, n. 4, p. 389 – 392, 2012.

RIACHI, LIZA G., AND CARLOS ALBERTO DE MARIA. "Peppermint antioxidants revisited." **Food Chemistry** 176 (2015): 72-81.

RIBEIRO, M.A., MARTINS, M.M., ESQUIVEL, M.M., BERNARDO-GIL, M.G.,. Peppermint supercritical CO<sub>2</sub> extraction. Influence of extraction conditions on the antioxidant activity of the residues. **Informacion Tecnologica** 13 (3), 185–190, 2002.

RUBERTO, G., BARATTA, M., T.. "Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems." **Food chemistry** 69.2 : 167-174, 2000.

SALDANHA, L.A. **Avaliação da atividade antioxidante in vitro de extratos de erva mate (*Ilex paraguaiensis*) verde e tostada e chá verde (*Camellia sinensis*)**. USP. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Saúde Pública). São Paulo – SP, p. 120, 2005.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, p.121-137, 2002.

SANT SANGANERIA. Vibrant India. Opportunities for the flavor and fragrance industry. **Perfumer and flavorist**, v.30, p.24-34, 2005.

SCAVRONI, J. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* L. submetida a aplicações de giberilina e citocinina. *Revista Brasileira de Horticultura*, v. 8, n. 4, p. 40-3, 2006.

SCHMIDT, E.; BAIL, S.; BUCHBAUER, G.; STOILOVA, I.; ATANASOVA, T.; STOYANOVA, A.; KRASTANOV, A.; JIROVETZ, L. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of essential oil from *Mentha x piperita*. **Natural Product Communications**, EUA, v. 4, n. 8, p. 1107 – 1112, 2009.

SERAFINI, M. The role of antioxidants in disease prevention. *Medicine*, v. 34, n.12, p. 533-535, 2006.

SHRIVASTAVA ALANKAR .A review on peppermint oil. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research** 187 . Volume 2, Issue 2, April- June, 2009.

SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol.** 299, 152-178, 1999.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, mar. 2002.

SOUZA WP; QUEIROGA CL; SARTORATTO A; HONÓRIO SL. . Avaliação do teor e da composição química de óleo essencial de *Mentha piperita* (L.) Huds durante o período diurno em cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** 8:108-111, 2006.

TAMAYO, C. Fitoterapia basada en la evidencia. **Revista de Fitoterapia**, v. 6, p. 55-60, 2006.

TAVISH, H.M.; HARRIS, D. **An economic study of essential oil production in the UK: a case study comparing non-UK lavender/lavandin production and peppermint/spearmint production with UK production techniques and costs.** For the Government Industry, Forum for Non-Food Crops. The Scotch Parliament, Edinburg 2002.

THE MERCK INDEX. 12. ed. Whitehouse Station, NJ: Merck and Company Incorporation, 1996. p.996

TSAI, M.-L., WU, C.-T., LIN, T.-F., LIN, W.-C., HUANG, Y.-C., & YANG, C.-H. Chemical composition and biological properties of essential oils of two mint species. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 12(4), 577–582, 2013.

VANCINI R.L.; LIRA C.A.B. **Radical livre, estresse oxidativo e exercício.** Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

VERMA, R. S.; PANDEY, V.; PADALIA R. C.; SAIKIA, D.; KRISHNA, B. Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Aqueous Distillate Volatiles of Indian Peppermint (*Mentha piperita*) and Spearmint (*Mentha spicata*). **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, Reino Unido, v. 17, n. 3, p. 258 – 267, 2011.

WANG, D., FAN, G., WANG, Y., LIU, H., WANG, B., DONG, J., Vascular reactivity screen of Chinese medicine danhong injection identifies danshensu as

a no-independent but PGI<sub>2</sub>-mediated relaxation factor. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 62(5), 457–465, 2013.

WEISBURGER, J.H. Tea and health: a historical perspective. *Cancer Letters*, Amsterdam, v.114, p. 315-317, mar. 1997.

YADEGARINIA D, GACHKAR L, REZAEI MB, TAGHIZADEH M, ASTANEH SA. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry* 67:1249–1255, 2006.

YAMANE, M.; CHANDRAVANSI, B. S; WONDIMU, T. Levels of essential and non-essential metals in leaves of the tea plant (*Camellia sinensis* L.) and soil of Wushwush farms, Ethiopia. *Food Chemistry*, v. 107, p. 1236, 2008.

ZHENG, WEI, AND SHIOW Y. WANG. "Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs." *Journal of Agricultural and Food chemistry* 49.11 : 5165-5170, 2001.