

**UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE E AGRÁRIAS
MESTRADO PROFISSIONAL EM DESENVOLVIMENTO RURAL**

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE
Mentha arvensis L. EM ERITRÓCITOS DE VACAS
LEITEIRAS COM MASTITE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CECILIA GABRIELA RUBERT POSSENTI

CRUZ ALTA, RS, Brasil

2014

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE
Mentha arvensis L. EM ERITRÓCITOS DE VACAS
LEITEIRAS COM MASTITE**

CECILIA GABRIELA RUBERT POSSENTI

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural, da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Desenvolvimento Rural**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Roberta Cattaneo Horn

Cruz Alta, RS, Brasil

2014

**Universidade de Cruz Alta
Centro de Ciências da Saúde e Agrárias
Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE
Mentha arvensis L. EM ERITRÓCITOS DE VACAS
LEITEIRAS COM MASTITE**

elaborada por
Cecilia Gabriela Rubert Possenti

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Desenvolvimento Rural

COMISSÃO EXAMINADORA:

Roberta Cattaneo Horn, Dr^a.
(Presidente/Orientadora)

Cândida Elisa Manfio, Dr^a. (UNICRUZ)

Bárbara Clasen, Dr^a. (UFSM)

Cruz Alta, 17 de abril de 2014.

Aos meus amados pais Enio José e Marilene Rubert Possenti, pelo amor, apoio, incentivo e dedicação a mim dispensados em todos os momentos da minha vida. Amo muito vocês.

Ao meu noivo Thiago Pereira, meu companheiro, por ter me acompanhado desde a graduação, pelo seu amor, carinho, dedicação, paciência e compreensão nos momentos de ausência, incentivo, por sempre me ajudar, não sendo possível descrever em palavras o quanto és importante para mim. Te amo muito meu neguinho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, pela oportunidade de viver, por sempre me amparar e proteger, além de iluminar meus caminhos e guiar as minhas decisões durante toda a minha trajetória de vida.

Aos meus pais Enio e Marilene por todo amor, incentivo, companheirismo, pela ajuda incondicional e por tudo que sempre fizeram por mim. Amo muito vocês.

Ao meu noivo Thiago por todo o amor que dedica a mim, por me apoiar, aconselhar, me ouvir, entender e compartilhar comigo todos os momentos, estando sempre ao meu lado e por todas as palavras de motivação.

A dissertação é um trabalho individual, mas não solitário. Muitos são os contributos para que, ao final se tenha um bom trabalho e estes são dignos de serem referidos. Por esta razão, desejo expressar os meus sinceros agradecimentos:

A minha orientadora professora Dr^a. Roberta Cattaneo Horn, pelos ensinamentos e pela paciência, confiança, dedicação e amizade a mim dispensados.

Ao meu co-orientador professor Dr. Jorge D. Stumpfs Diaz, pelos ensinamentos, por sempre ter acreditado no meu potencial, pela amizade e auxílio nesse e em todos os trabalhos que já realizamos.

Aos demais professores do Curso de Mestrado em Desenvolvimento Rural, por todos os ensinamentos em especial a professora Dr^a. Ana Lucia, por toda amizade e confiança.

Aos colegas do curso de mestrado, que se tornaram grandes amigos, pela troca de experiências, companheirismo, em especial aos grandes amigos Jair, Darci, Alceu, Rodrigo, Márcio, Gilvana, Edilson, João...

A propriedade Irmãos Strobel, pela oportunidade em realizar as coletas dos animais e em especial ao colega e amigo Chester Batista, Médico Veterinário responsável pela propriedade, pela sua disposição em ajudar nas coletas e nas dúvidas que foram surgindo durante a elaboração deste trabalho.

Ao Grupo de Pesquisa Ciência, pela ajuda na condução dos experimentos, em especial aos bolsistas Queli e Vanderlei pela ajuda e dedicação na análise das amostras.

À Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), pelo apoio e disponibilidade das instalações. E ao CNPq pelo apoio financeiro, em forma de bolsas de estudo para custeamento do projeto.

As funcionárias dos Laboratórios da Unicruz pela ajuda nos experimentos, em especial a Lizandra, Maria Fátima e Angélica, que além de grandes amigas, sempre estiveram ao meu lado dispostas em ajudar, me incentivando muitas vezes em que tinha vontade de desistir... Minhas três pequenas, mas grandes amigas para sempre.

Aos colegas de trabalho, em especial ao Marco Bittencourt, que sempre foi muito compreensivo, fazendo o possível para me liberar para aulas e viagens sempre que necessário. Agradeço também a Prof. Msc. Josiane pela amizade, ajuda dispensada e incentivo nas pesquisas.

Aos secretários da Pós Graduação Paula e Murilo, por serem solícitos e atenciosos nos nossos pedidos.

Aos amigos de fé Elenice, Leandro, Cássia, Bolinha, Vivi, Roger... pelo incentivo e apoio nas conquistas alcançadas até então.

E, a tantos outros que contribuíram de forma direta e indireta na realização deste trabalho.

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS!

*“Aprenda como se fosse viver para sempre.
Viva como se fosse morrer amanhã.”*

Mahatma Gandhi

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural
Universidade de Cruz Alta, RS, Brasil

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE *Mentha arvensis* L. EM ERITRÓCITOS DE VACAS LEITEIRAS COM MASTITE

AUTORA: CECILIA GABRIELA RUBERT POSSENTI

ORIENTADORA: ROBERTA CATTANEO HORN

Cruz Alta, 17 de abril de 2014.

A mastite é uma doença que acomete o gado leiteiro causando perdas na produção leiteira e grandes prejuízos financeiros ao produtor. Essa patologia pode levar a ocorrência de estresse oxidativo, que é um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas (ERs) e da atividade do sistema antioxidante, o que pode levar a danos nas biomoléculas do animal. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi investigar a ação antioxidante do extrato de *Mentha arvensis* L. em eritrócitos de vacas leiteiras com mastite, tratados previamente ou não com antibióticos. Amostras de sangue de 75 vacas leiteiras foram divididas em três grupos: o grupo controle (P1), composto por 25 animais saudáveis; o grupo 2 (P2), composto por 25 vacas com mastite bovina sem tratamento prévio com antibiótico; e o grupo 3 (P3), composto por 25 vacas com mastite, as quais haviam passado por tratamento prévio com antibiótico. Como marcadores de estresse oxidativo, foram analisados os níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), das proteínas carboniladas (PCs) e de glutathiona reduzida (GSH) nos eritrócitos dos animais dos grupos citados, antes e após o tratamento com extrato da *M. arvensis*. Esses resultados evidenciam a eficácia do uso do extrato de *M. arvensis*, diminuindo os níveis de estresse oxidativo representados através do TBARS e das PCs, em como, o aumento da atividade antioxidante observada pela elevação da GSH, demonstrando que a planta apresenta ação antioxidante frente aos eritrócitos das

vacas leiteiras, no entanto, mais estudos toxicológicos precisam ser realizados para que a mesma possa ser utilizada como suplemento nas dietas fornecidas.

Palavras Chave: Estresse Oxidativo. Mastite bovina. *Mentha*.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Professional Master in Rural Development
University of Cruz Alta, RS, Brazil

EVALUATION OF LEVELS OF STRESS IN DAIRY CATTLE HIGH PRODUCTION AND ANTIOXIDANT ACTION EXTRACT *M. arvensis* L.

AUTHOR: CECILIA GABRIELA RUBERT POSSENTI

ADVISOR: ROBERTA CATTANEO HORN

April 17th, 2014, Cruz Alta.

Mastitis is a disease that affects dairy cattle causing losses in milk production and large financial losses to the producer. This condition may lead to the occurrence of oxidative stress that is an imbalance between the production of reactive species (ERS) and the activity of antioxidant system, which can lead to damage to the biomolecules of the animal. In this context, the aim of this study was to investigate the antioxidant activity of *Mentha arvensis* L. extract in erythrocytes of dairy cows with mastitis, or not previously treated with antibiotics. Blood samples from 75 dairy cows were divided into three groups: control group (P1), composed of 25 healthy animals; group 2 (P2), consisting of 25 cows with bovine mastitis without prior antibiotic treatment; and group 3 (P3), consisting of 25 cows with mastitis, which had undergone previous treatment with antibiotics. As markers of oxidative stress, the levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), the protein carbonyls (PCs) and reduced glutathione (GSH) in erythrocytes of animals on those groups before and after treatment were analyzed to extract *M. arvensis* L. These results demonstrate the efficacy of the extract of *M. arvensis* L., decreasing the levels of oxidative stress represented by TBARS and PC, how, increased antioxidant activity observed by elevated GSH, indicating that the plant has antioxidant action ahead erythrocyte dairy cows, however, more toxicological studies must be performed so that the same can be used as a supplement in the diets provided.

Key Words: Oxidative Stress, Bovine mastitis, *Mentha*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

FIGURA 1 – Produção total de leite no Rio Grande do Sul de 1998..... 28

FIGURA 2 – Enzimas do sistema de antioxidantes encontradas em células de mamíferos, suas funções e os respectivos micro minerais que as compõe..... 31

ARTIGO I

FIGURA 1 - Dosagem dos níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em nmol/gHb, nos eritrócitos de vaca leiteiras expostas ao Extrato de *Mentha arvensis* (1mg/mL) por 1 hora. P1: níveis de TBARS do grupo controle; P2: níveis de TBARS dos bovinos com mastite e sem tratamento P3: níveis de TBARS das vacas com mastite com tratamento prévio. Os valores foram expressos por média \pm erro padrão, com um n=25 por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste Tukey-Kramer a 5% de probabilidade de erro. Letras distintas representam resultados estatísticos significativamente diferentes. Cruz Alta, RS, Universidade de Cruz Alta, 2014..... 45

FIGURA 2 - Níveis de proteínas carboniladas (PCs) em nmol carbonil/mg prot totais nos eritrócitos de bovinos de leite expostos ao Extrato de *Mentha arvensis* (1mg/mL) por 1 hora. P1: níveis de PCs do grupo controle; P2: níveis de PCs dos bovinos com mastite e sem tratamento P3: níveis de PCs das vacas com mastite com tratamento prévio. Os valores foram expressos por média \pm erro padrão, com um n=25 por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste Tukey-Kramer a 5% de probabilidade de erro. Letras distintas representam resultados estatísticos significativamente diferentes. Cruz Alta, RS, Universidade de Cruz Alta, 2014..... 45

FIGURA 3 - Níveis de Glutathione Reduzida (GSH) em $\mu\text{mol GSH/mL}$, nos eritrócitos de bovinos de leite expostos ao extrato de *Mentha arvensis* (1mg/mL) por 1 hora. P1: níveis de GSH do grupo controle; P2: níveis de GSH dos bovinos com mastite e se... tratamento P3: níveis de GSH das vacas com mastite com tratamento prévio. Os valores foram expressos por média \pm erro padrão, com um $n=25$ por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste Tukey-Kramer a 5% de probabilidade de erro. Letras distintas representam resultados estatísticos significativamente diferentes. Cruz Alta, RS, Universidade de Cruz Alta, 2014..... 46

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CAT: Catalase

EROs: Espécies reativas de oxigênio

ERNs: Espécies reativas de nitrogênio

GSH: Glutathiona reduzida

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio

OH[·]: Radical hidroxila

LPO: Peroxidação lipídica

MDA: Malondialdeído

O₂^{·-}: Ânion superóxido

SOD: Superóxido dismutase

TBA: Ácido tiobarbitúrico

TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

IIMs: Infecções Intra Mamária

SUMÁRIO

RESUMO.....	08
ABSTRACT.....	10
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS.....	15
APRESENTAÇÃO.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo Geral.....	20
2.2 Objetivos Específicos.....	20
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1 Descrição Botânica.....	21
3.2 História da Mentha.....	24
3.3 Importância Econômica.....	26
3.4 Mastite.....	27
3.5 Estresse Oxidativo.....	29
3.6 Sistema Antioxidante.....	30
4 RESULTADOS.....	33
4.1 Artigo I: AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE <i>Mentha arvensis</i> L. EM ERITRÓCITOS DE VACAS LEITEIRAS COM MASTITE Cecilia G. Rubert Possenti, Queli Cristina Sostisso Seifert, Roberta Cattaneo Horn, Jorge Damián Stumpfs Diaz, Diego Pascoal Golle.	33
6 CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
ANEXOS.....	61
Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – CEUA.....	62
Normas Revista Química Nova (versão Impressa).....	63

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está descrita da seguinte forma: primeiramente são apresentados a **INTRODUÇÃO**, os **OBJETIVOS** e a **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**.

A seguir, os **RESULTADOS** são apresentados na forma de um **ARTIGO**. As seções Materiais e Métodos, Resultados, Discussão dos Resultados e Referências Bibliográficas, encontram-se no próprio artigo representando a integra deste trabalho.

O artigo foi submetido à Revista Química Nova (versão impressa).

No final da dissertação, encontra-se o item **CONCLUSÕES**, nos quais há interpretações e comentários gerais sobre os resultados contidos neste estudo.

As **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** referem-se somente às citações que aparecem nos itens **INTRODUÇÃO**, **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**, **DISCUSSÃO** e **CONCLUSÕES** desta dissertação.

1 INTRODUÇÃO

A região noroeste do Rio Grande do Sul é responsável pela produção de 1,8 bilhões/L ao ano de leite (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2012); sendo composta por pequenas propriedades onde a produção leiteira é a base econômica da propriedade rural. Entre as problemáticas que envolvem a produção leiteira, esta a perda da produção leiteira por doenças que acometem o gado leiteiro.

A mastite bovina é a infecção que ocorre na glândula mamária, trazendo inúmeros prejuízos ao produtor de leite, como baixa produtividade, gasto em medicações e perda da produção leiteira. Segundo Bernabucci et al., (2005), e Castillo et al., (2005), no caso de vacas leiteiras de alta produção, a mastite pode ser agravada, tendo em vista que estes animais são naturalmente mais suscetíveis ao estresse oxidativo, por causa das diversas reações oxidativas realizadas de forma mais intensa para aproveitamento dos nutrientes necessários à produção de leite.

O estresse oxidativo ocorre quando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) excede os mecanismos de defesa por meio dos antioxidantes do organismo animal (SPEARS; WEISS, 2008). Segundo Nockels (1996), durante o metabolismo, potentes oxidantes são produzidos, como os radicais livres, superóxido (O_2^-), radical peróxido (ROO^-), radical hidroxila (HO^-) e outros oxidantes não radicais como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio (O_2). Assim, o estresse oxidativo pode ocorrer no organismo a partir de um aumento na produção de EROS e uma resposta insuficiente ou ineficaz do sistema de defesa antioxidante, enzimático ou não, ocorrendo devido à carência de vitaminas e minerais, processos inflamatórios exacerbados, deficiências do sistema imune, situações de exercício intenso e condições exógenas (BASKIN et al., 2000). O rompimento deste equilíbrio em favor da condição pró-oxidante favorece injúrias celulares, tendo como consequências danos a biomoléculas como o DNA, proteínas, lipídeos e carboidratos (ANDERSON, 1996; RIBEIRO et al., 2005).

Devido ao efeito tóxico das EROs, existe um sofisticado sistema antioxidante dos quais alguns microminerais e vitaminas são componentes. O sistema possui antioxidantes lipó e hidrossolúveis, uma vez que as EROs estão presentes em diversos compartimentos celulares. Quando a capacidade antioxidante é limitada a

vida útil das células imunológicas envolvidas no processo inflamatório é reduzida e a infecção pode se tornar mais grave (WEISS, 2005). Por essa razão, terapias antioxidantes e dietas ricas ou enriquecidas com antioxidantes parecem prevenir ou pelo menos atenuar a deterioração orgânica por um excessivo estresse oxidativo (Guerra, 2001).

Cerca de 80.000 espécies de plantas no Brasil, são descritas por constituírem um potencial para o descobrimento de novos fármacos, porém apenas 17% delas são exploradas para pesquisas de compostos biologicamente ativos (POLITI; PIETRO; MOREIRA, 2009). A investigação quanto à ação antimicrobiana/antioxidante de plantas produz resultados úteis e elas constituem de um potencial terapêutico com ação significativa frente a patógenos de humanos e animais, incluindo bactérias, fungos e vírus (SCHUCK et al., 2001).

A *Mentha arvensis* L., conhecida também menta japonesa, vick, hortelã do Brasil, é uma planta aromática pertencente à família *Lamiaceae* e ao gênero botânico *Mentha*, originária do sul da China, comumente produtora de óleo essencial com alto teor de mentol cristalizável e alto valor econômico (BRILHO, 1963; SANTOS, 1965; MOTA; RODRIGUES, 2001; HERBOTECNIA, 2007; OKA; ROPERTO, 2007). A planta é utilizada como matéria-prima para obtenção da essência da menta; a essência é utilizada como matéria-prima para obtenção do mentol; e o mentol tem sido usado como medicinal, na forma de anestésicos locais, como anti-séptico e antioxidante (HERBOTECNIA, 2007).

A planta possui em suas folhas vitaminas A, B e C, minerais (cálcio, fósforo, ferro e potássio), exercem ação tônica e estimulante sobre o aparelho digestivo, além de ser ligeiramente vermífugo (lombriga e oxiúros), podendo ser utilizada amplamente na alimentação (OKA; ROPERTO, 2007), é de fácil propagação e cultivo. Assim, tendo em vista a necessidade de se encontrar alternativas para amenizar os danos oxidativos sobre o organismo de vacas leiteiras com mastite tratadas ou não com antimicrobianos, os objetivos deste estudo foram:

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o perfil oxidativo em amostras biológicas de bovinos com mastite e o efeito antioxidante do extrato da *Mentha arvensis* em testes “*in vitro*”.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em eritrócitos de bovinos com mastite bovina antes e depois do tratamento “*in vitro*” com o extrato de *Mentha arvensis*.
- Determinar os níveis das proteínas carboniladas (PCs) em eritrócitos de bovinos com mastite bovina antes e depois do tratamento “*in vitro*” com o extrato de *Mentha arvensis*.
- Avaliar os níveis de glutatona reduzida (GSH) em eritrócitos de bovinos com mastite bovina antes e depois do tratamento “*in vitro*” com o extrato de *Mentha arvensis*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Histórico da *Mentha*

Os primeiros relatos da ocorrência da *Mentha* datam do século I e correspondem a *Mentha arvensis*, quando o sacerdote japonês Enzan levou a planta da China para seus pais, cultivando-a aos arredores de Kyoto, para usar suas folhas no chá. A partir de 1870 houve um aumento na área plantada próximo a cidade de Yamagata e, em 1892, a mentha já tinha sido encontrada em outras ilhas do Japão. O cultivo dessa planta por muito tempo se restringiu ao monopólio chinês e japonês (LEAL, 2001).

Existem muitas espécies originárias do sul da Europa e Ásia Ocidental. As espécies de *Mentha* facilmente produzem híbridos comuns, o que constitui uma série de dificuldades para se identificar as espécies (GIACOMETTI, 1989).

No Brasil, a menta passou a ser cultivada em pequena escala pelos primeiros imigrantes japoneses, que a trouxeram para o interior do Estado de São Paulo, no começo do século XX, principalmente após o grande terremoto de 1923. As restrições comerciais impostas aos produtos japoneses durante a Guerra Japonesa e II Guerra Mundial causaram escassez de óleo de menta e do mentol no mundo todo, elevando seus preços e estimulando os agricultores japoneses, imigrados para o Brasil, a cultivarem a menta em escala industrial. Por isso, o Brasil teve grande importância mundial na produção deste óleo essencial, alcançando em pouco tempo o nível de grande produtor e exportador de óleo essencial e mentol (CZEPAK, 1995; FREITAS, 1999).

Segundo Santos (1993), a partir de São Paulo, o cultivo de menta avançou para o norte do Estado do Paraná, alcançando também o Paraguai. No Brasil, ela foi intensamente cultivada entre 1963 e 1975, quando começou a entrar em declínio.

Na década de 70, a produção de menta no Brasil correspondeu a 63,7 a 80,8% da produção mundial. Neste período, o Paraná foi considerado o maior produtor mundial de óleo essencial de menta, com 95% da produção brasileira.

No Brasil, a menta desenvolveu-se como uma cultura desbravadora, em terras recém desmatadas, ou seja, solos férteis do estado do Paraná e São Paulo, com altitude entre 250 a 400 metros, que ofereceram condições favoráveis para o seu cultivo. Depois do Brasil, a China e o Paraguai também se destacaram como principais fornecedoras mundiais de óleo (LEAL, 2001).

A partir da safra de 1974, a produção de óleo essencial foi decrescendo pela diminuição das áreas de desbravamento e o baixo nível tecnológico do agricultor. Após o esgotamento da fertilidade natural do solo, o agricultor abandona a área onde implementou a cultura inicialmente e vai se estabelecer em outro local, iniciando uma nova derrubada da mata virgem, com a retomada do mesmo processo predatório de exploração do solo. A atividade mentícola no estado do Paraná praticamente desapareceu devido à extinção das áreas de desbravamento (CZEPAK, 1995).

Moraes (2000), estudando o potencial de mercado para óleos essenciais de oito ervas medicinais aromáticas e condimentares, no Rio Grande do Sul, Brasil, concluiu que o número de indústrias que trabalham na produção de aromas e essências não ultrapassa dez. O número de empresas que trabalham na produção de aromas e atacado, com embalagens de 50, 100 e 200 Kg, está próximo de 30.

No Brasil, os principais consumidores de óleos essenciais são as farmácias de manipulação, utilizando-os para a preparação de fórmulas fitoterápicas, e as empresas fabricantes de perfumes. Dentro das espécies pesquisadas, os óleos de hortelã e alecrim destacam-se em termos de volume total comercializado. O óleo de hortelã, apesar de baixo preço, em relação aos outros óleos, tem boa possibilidade no mercado interno de óleos essenciais em expansão, onde o abastecimento ainda é realizado por produto importado.

3.2 *Mentha arvensis* L.

As Lamiaceae compreendem uma família pertencente à Ordem Tubiflorae (Lamiales), abrangendo cerca de 200 gêneros e, aproximadamente, 3.200 espécies, distribuídas em todo o mundo. Menta é o nome comum de aproximadamente 25 espécies perenes do gênero *Mentha*, que se desenvolve melhor em regiões de clima temperado. O nome usado para se referir a algum membro das Lamiaceae, frequentemente chamada pela família das mentas, pelo fato de as plantas dessa família serem caracterizadas por suas folhagens aromáticas. As mentas verdadeiras, entretanto, são restritas a pequenos grupos e por muitos híbridos. Propagam-se por sementes, porém os híbridos de menta são estéreis e podem se propagar por replante de estolhos (JOLY, 1983).

O gênero *Mentha* é taxonomicamente complexo, em relação à variação na plasticidade fenotípica e à variabilidade genética. Muitas espécies são capazes de hibridização com outras (HALLIDAY; BEADLE, 1972). São cultivadas como ervas, cujas folhas podem ser secas e usadas como flavorizantes e seu óleo essencial são usados como aromatizante pelas indústrias farmacêuticas em fragrâncias, na medicina e como condimento alimentar.

Caracterizam-se pelo uso de chás com efeito medicinal e pela produção de óleos essenciais com grande potencial econômico. Os óleos essenciais são empregados na indústria de cosméticos, de perfumaria e na farmacêutica (LORENZI; MATOS, 2002). O sabor e aroma refrescantes se devem à presença desses óleos acumulados em tricomas glandulares de folhas e inflorescências. Essas plantas se destacam pelo uso culinário e de chás medicinais, utilizados popularmente, no tratamento de distúrbios digestivos e de verminoses (LORENZI; MATOS, 2002).

As *Menthas* destacam-se pelo uso como chás com efeitos medicinais (WATANABE et al., 2006), e, principalmente pelo seu odor e sabor mentolado refrescante (LORENZI; MATOS, 2002).

Todas as plantas são perenes, herbáceas, de crescimento rápido, com caules violáceos ramificados, folhas opostas serradas, flores azuladas, lilases ou esbranquiçadas, dispostas em espigas terminais, e frutos aquênio (WATANABE et al., 2006). Segundo Pio Correa (1978), as espécies de *Mentha* apresentam um grande polimorfismo, levando a produção de numerosas variedades, formas e híbridos, o que dificulta a classificação botânica.

As folhas das mentas apresentam vitaminas A, B, C, sendo utilizadas na indústria farmacêutica. Possuem ação estimulante sobre o aparelho digestivo e propriedades antissépticas e anestésicas (WATANABE et al., 2006)

As espécies se destacam pelo uso culinário, chás e, principalmente, pelo interesse econômico, porque seus óleos essenciais são uma rica fonte de mentol, com várias aplicações industriais, como em produtos de higiene bucal, flavorizantes, aromatizantes de alimentos e bebidas, como em perfumaria e produtos farmacêuticos (MATOS, 2000; KUMAR et al., 2002).

O uso dessas plantas é recomendado para melhorar o sabor e odor de preparações farmacêuticas, e, também, por suas ações terapêuticas, especialmente nas práticas caseiras da medicina popular (MATOS, 2002).

A menta dá um sabor característico às hortaliças cozidas, como por exemplo, as cenouras, as batatas e as ervilhas. Seu efeito refrescante melhora o sabor das saladas de frutas e de verduras, assim como de bebidas e frutas. As folhas de menta podem servir para temperar carnes, antes de assá-las (LEAL, 2001). São plantas produtoras de óleos essenciais e estes estão acumulados em tricomas glandulares das folhas e inflorescências (GARLET, 2007).

Os óleos essenciais são frações líquidas e voláteis que contêm as substâncias responsáveis pelo aroma das plantas, produto do metabolismo secundário. Também podem ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências (SIMÕES; SPITZER, 2003). Estes óleos essenciais são importantes para a indústria farmacêutica, cosmética e de alimentos, além de sua utilização na medicina popular. A composição do óleo essencial é influenciada por fatores ambientais como, o fotoperíodo, a temperatura do ar e a nutrição da planta, sendo

que as espécies aromáticas diferem na quantidade e na qualidade do óleo essencial (PAULUS et al., 2007).

Essas substâncias odoríferas essenciais presentes nas plantas aromáticas são metabólitos secundários, com grande destaque na sobrevivência e perpetuação da espécie, destacando-se também pela função medicinal, condimentar e na composição de perfumes e aromatizantes (PAULUS et al., 2007), e no tratamento de distúrbios e verminoses (LORENZI; MATOS, 2002). Os óleos essenciais das mentas possuem constituintes químicos de valores econômicos, destacando-se: mentol, mentona, carvona, linalol, pulegona (GARLET, 2007) e óleo de piperitenona (MATOS, 2000).

A carvona é empregada na forma de óleo em alimentos e produtos antissépticos, pois é um eficiente agente antimicrobiano contra bactérias e fungos patogênicos. Atua como inseticida contra moscas das frutas, larvas de insetos e contra o vetor da dengue hemorrágica (GARLET, 2007).

O linalol presente nos óleos essenciais é usado como matéria-prima em indústrias de perfumes e medicamentos, devido ao odor agradável produzido (MARQUES, 2001). O linalol exerce atividade antiinflamatória, antinociceptiva, antihiperálgica, 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). Já, o óxido de piperitenona apresenta considerável ação na cura de amebíase, giardíase e tricomoníase urogenital (MATOS, 2000).

O emprego desta planta e seu óleo essencial são aprovados em todo o mundo como medicação útil nos casos de resfriado comum, tosse, bronquite, febre, calafrios, inflamações na boca e na faringe, dores e tendência a infecções (LORENZI; MATOS, 2002).

O chá é conhecido como tônico digestivo por suas ações estomáquicas, carminativas, antiemético e por aliviar o estômago após o vômito. Também possui propriedades antiespasmódica, antidispéptica, descongestionante nasal e antigripal. Utilizado como loção, é benéfico para combater prurido e infecções da pele,

protegendo-a. As folhas frescas aliviam as dores de cabeça e de articulações reumáticas, quando em contato com essas regiões (LEAL, 2001; LORENZI; MATOS; 2003).

3.3 Importância Econômica

A fitoterapia consiste no conjunto de técnicas de utilização dos vegetais no tratamento e na recuperação da saúde. Comporta numerosas escalas que estudam e empregam as plantas medicinais, das mais simples e empíricas às científicas e experimentais. O tratamento e a cura das enfermidades já identificadas e as que virão a serem descobertas, necessitarão da descoberta e síntese de novas substâncias e compostos com propriedades terapêuticas (SOUSA JUNIOR, 2000).

No passado, a fitoterapia era mais adotada pela população carente da área rural ou urbana, devido à fácil disponibilidade e aos menores custos. Atualmente, o uso de plantas como uma fonte de medicamentos é predominante em países em desenvolvimento como uma solução alternativa para problemas de saúde e está bem estabelecido em algumas culturas e tradições, especialmente na Ásia, América Latina e África. Pelo aumento no interesse por produtos naturais, o uso de plantas medicinais tornou-se mais ou menos geral. Muitas destas plantas não têm sido estudadas e podem ser avaliadas quanto à ação antimicrobiana, em contraste com plantas nativas da Europa, que já foram exaustivamente estudadas (CONNER, 1993).

A confirmação científica dos efeitos benéficos das plantas condimentares que são usadas na alimentação como uma fonte de agregação de valor à composição nutricional, aroma e sabor dos alimentos, se deve, à presença de substâncias antioxidantes (BARA et al., 2006).

Por outro lado, os compostos apresentam ação antioxidante, destacando as especiarias e ingredientes utilizados no preparo dos alimentos (FILHO e YUNES, 1998).

O principal produto da menta é o seu óleo essencial, que pode ser obtido por diferentes métodos de extração. Uma vez extraído, o óleo do material vegetal é

comercializado e, posteriormente, submetido a processos industriais de desdobramento de seus componentes, fornecendo principalmente o mentol cristalizado e o óleo desmentolado (CZEPAK, 1995). Além do mentol, algumas espécies do gênero apresentam elevadas concentrações de linalol, mentona e carvona. Aflatuni (2005) ilustra o uso dos óleos essenciais na indústria como aromatizantes de medicamentos e preparações orais, como cremes dentais e soluções antissépticas, além de seu uso como flavorizantes em gomas de mascar, balas, bebidas e cigarros.

Nas últimas décadas, as mudanças culturais, o fenômeno de degradação das florestas e extinção das espécies vegetais tem causado o desaparecimento de um considerável número de plantas com propriedades medicinais, o que torna urgente a intensificação nos investimentos para o reconhecimento dos diferentes compostos químicos e suas atividades farmacêuticas, não somente pela preservação das espécies vegetais, bem como, o enriquecimento científico aplicado ao bem estar humano e animal (ELISABETSKY, 2003; GARCIA et al., 2005).

3.4 Mastite

Os esforços para obtenção de lucro no setor da bovinocultura leiteira focam-se principalmente na maximização da produção de leite e barateamento do custo da ração, tendo pouca consideração com outros custos como, por exemplo, a saúde da vaca. A produção leiteira aumentou substancialmente durante as últimas décadas e médias anuais de 9.000 kg de leite não são mais incomuns. Segundo o IBGE (2014), a produção de leite entre 1998-2013 apresentou crescimento considerável (Figura 1).

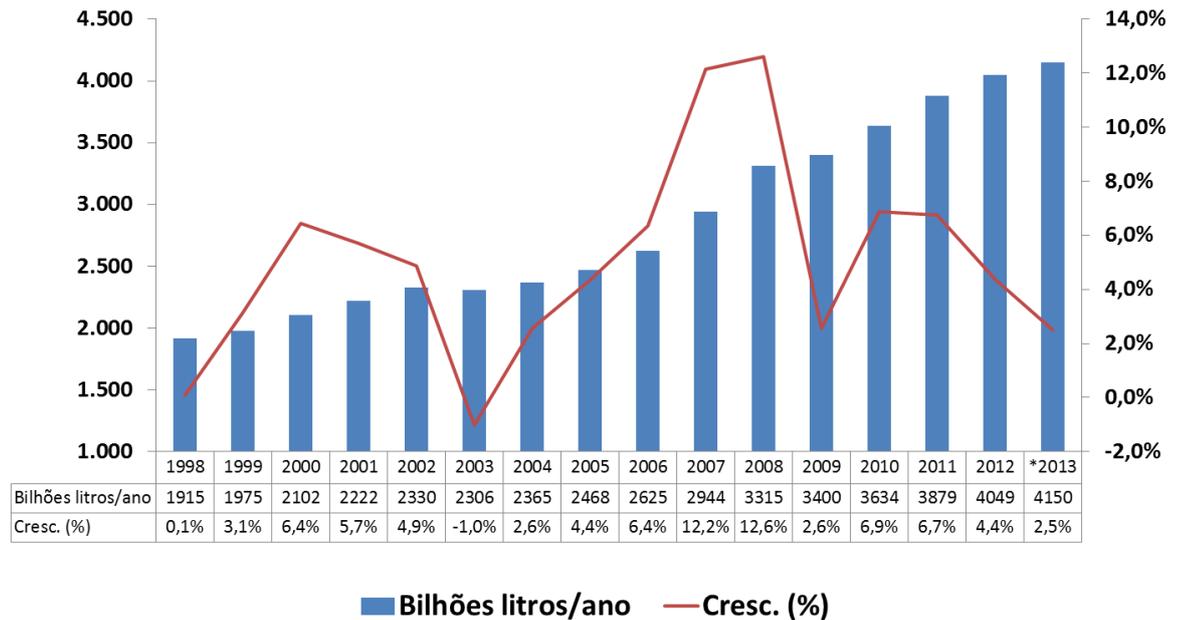


Figura 1. Produção total de leite no Rio Grande do Sul de 1998 – 2013.
Fonte: IBGE – Pesquisa Pecuária Municipal

Esses ganhos são resultados de intensa seleção genética, além da nutrição e manejo. Entretanto, além da produção em si, hoje os profissionais da área preocupam-se com baixa fertilidade e problemas de saúde do rebanho. Entre os problemas mais decorrentes na saúde dos animais esta a mastite bovina.

As infecções intramamárias (IIMs) ocorrem quando um agente (infeccioso, químico, mecânico ou térmico) agride a glândula mamária, produzindo uma reação inflamatória e danos ao epitélio glandular, caracterizando o quadro de mastite (CULLOR et al., 1993).

O desencadeamento da mastite está vinculado à complexa tríade: animal (hospedeiro), ao agente etiológico e/ou ao meio ambiente, fazendo desta uma enfermidade multifatorial (HURLEY & MORIN, 2001).

A seleção genética visando incremento na produção de leite foi acompanhada por aumento a susceptibilidade às IIMs. A conformação da glândula mamária e tetas constituem uma característica moderada a altamente herdável; tetas planas e cilíndricas são mais susceptíveis a infecção do que as tetas de formato cônico (mais resistentes) (HURLEY; MORIN, 2001).

A defesa celular da glândula mamária envolve principalmente os neutrófilos, capazes de fagocitar uma ampla variedade de partículas (SORDILLO et al., 1997).

Nesse processo ocorre uma explosão na produção de metabólitos do oxigênio, denominados radicais livres, que constituem o mais eficiente sistema bactericida dos neutrófilos (COTRAN et al., 1994). Os radicais livres podem modificar as estruturas da membrana e de outros componentes celulares dos neutrófilos e, quando liberados, podem lesionar a membrana celular de outros tipos celulares, como, por exemplo, os eritrócitos (MILLER et al., 1993; COTRAN et al., 1994; HARVEY, 1997). Além disso, em razão da sua função de transportador de oxigênio, os eritrócitos estão particularmente vulneráveis aos radicais livres que são formados no interior da célula durante os processos metabólicos fisiológicos, principalmente àqueles relacionados às funções da hemoglobina (SMITH, 1987; HARVEY, 1997). Para proteger o organismo dessas moléculas reativas, uma ampla variedade de sistemas antioxidantes trabalha em conjunto (MILLER et al., 1993).

3.5 Estresse Oxidativo

Algumas substâncias podem acelerar o processo de oxidação lipídica. Essas substâncias são denominadas Espécies Reativas de Oxigênio (EROS). As EROS são geradas nos sistemas biológicos, porém existe um equilíbrio entre a produção das EROS e sua inativação dentro de um sistema biológico (WANG et al., 2011). Quando há um desequilíbrio, ou seja, a produção de EROS é maior que sua inativação pelos antioxidantes, ocorre oxidação lipídica e estresse oxidativo (GÜLÇİN et al., 2007; COSTA et al., 2011).

As EROS podem reagir com biomoléculas como proteínas, carboidratos, lipídios e ácidos nucleicos. Nas proteínas tanto a ligação peptídica quanto as cadeias laterais podem ser alvos (LEVINE, 2002). Estas modificações causam mudanças nas propriedades físicas e químicas das membranas celulares, alterando sua fluidez e permeabilidade, com expansão do líquido intracelular e risco de ruptura das membranas da célula e das organelas, com consequente morte celular (VASCONCELOS et al., 2007).

Estresse oxidativo é definido como uma perturbação do equilíbrio entre componentes pró-oxidantes e antioxidantes em favor dos primeiros, gerando

potencial dano. Sendo o resultado de um de três fatores: (1) aumento na geração de EROs, através da acumulação de intermediários reativos; (2) prejuízo do sistema de defesa antioxidante (inibição de enzimas antioxidantes, depleção de antioxidantes não-enzimáticos); (3) incapacidade para reparar dano oxidativo (ALY et al., 2010).

O estado de estresse oxidativo é decorrente de um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes devido à depleção destes ou à superprodução de das EROs e das espécies reativas de nitrogênio (ERNs), ou ambos, resultando em danos ao organismo (ISIK; CELIK, 2008), sendo que a maioria provém do metabolismo do O₂, utiliza-se com maior frequência o termo EROs. Estas EROs podem modificar todas as macromoléculas celulares, incluindo proteínas, lipídios e ácido desoxirribonucléico (DNA) (SIES, 1993).

As EROs e as ERNs, têm importante função biológica, como na fagocitose, fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor das células ou da corrente sanguínea (SCHAFER, 2001). No entanto, as EROs e ERNs podem originar-se tanto do metabolismo natural, sendo produzidos através da oxidação aeróbica como resultado do processo de respiração que ocorre nas mitocôndrias das células, a fim de gerar ATP, ou originam-se de fontes externas, como ambiente onde vivem os animais, exposição ao calor, aplicação de medicamentos, substâncias tóxicas presentes em alimentos, contenção inadequada (ABDOLLAHI et al., 2004; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

3.6 Sistema Antioxidante

Devido ao efeito tóxico das EROs, existe um sofisticado sistema antioxidante dos quais alguns microminerais e vitaminas são componentes (Tab. 1). O sistema possui antioxidantes lipo e hidrossolúveis, uma vez que as EROs estão presentes em diversos compartimentos celulares. Quando a capacidade antioxidante é limitada a vida útil das células imunológicas envolvidas no processo inflamatório é reduzida e a infecção pode se tornar mais grave (WEISS, 2005).

Figura 2. Enzimas do sistema de antioxidantes encontradas em células de mamíferos, suas funções e os respectivos microminerais que as compõe.

Componente (localização na célula)	Nutrientes envolvidos	Função
Superóxido <u>dismutase</u> (citossol)	Cobre e zinco	Enzima que converte superóxido a peróxido de hidrogênio
Superóxido <u>dismutase</u> (mitocôndria)	Manganês e Zinco	Enzima que converte superóxido a peróxido de hidrogênio
<u>Ceruloplasmina</u> (fase aquosa)	Cobre	É uma proteína antioxidante que evita que o ferro e cobre participe em reações de oxidação
Glutathione peroxidase (citossol)	Selênio	Uma enzima que converte peróxido de hidrogênio em água
<u>Catalase</u> (citossol)	Ferro	É uma enzima primariamente no fígado, que converte peróxido de hidrogênio em água
Acido ascórbico (citossol)	Vitamina C	Reage com vários tipos de radicais livres
α <u>tocoferol</u> (membranas)	Vitamina E	Quebra a reação em cadeia de <u>peroxidação dos ácidos graxos</u>
β caroteno (membranas)	β caroteno	Evita a iniciação da reação em cadeia da <u>peroxidação em cadeia de ácidos graxos</u>

Fonte: Weiss (2005)

Mecanismos de defesa (sistema antioxidante) foram desenvolvidos por diferentes organismos para prevenir e interceptar a formação de oxirradicais e ainda reparar moléculas oxidadas (AHMAD et al., 2000; LI et al., 2003). Assim, a célula possui uma série de defesas capazes de evitar ou combater o efeito deletério dessas EROs geradas pelo metabolismo aeróbio. O sistema de defesa é formado por antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos, que podem ser produzidos endogenamente ou adquiridos pela dieta. Dentre as principais enzimas que combatem a formação de EROs, estão a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT), as quais podem atenuar a sensibilidade das células aos oxidantes (ORUÇ; ÜNER, 2000). A SOD catalisa a conversão do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) para produzir peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o qual é metabolizado pela CAT em oxigênio molecular e água (VAN DER OOST et al., 2003). Glutathione-S-transferases (GSTs) são um grupo de isoenzimas multifuncionais envolvidas na biotransformação e detoxificação de xenobióticos (CNUBBEN, 2001). Um papel crucial da GST é proteger as células auxiliando na detoxificação contra danos

oxidativos e produtos peroxidativos (VAN DER OOST et al., 2003).

Além das defesas enzimáticas, componentes do sistema de defesa antioxidante não-enzimático, atuam impedindo reações de auto-oxidação sob condições de estresse oxidativo. O ácido ascórbico tem sido considerado como um fator essencial para atenuar alguns dos efeitos tóxicos dos radicais livres (SAYEED et al., 2003). A glutatona reduzida (GSH) é o principal tiol não-protéico e um dos principais agentes redutores encontrados nas células. Processos relacionados à GSH desempenham um papel central na defesa antioxidante por contribuir com inúmeros processos como o combate aos radicais livres, redução de peróxidos e detoxificação de compostos eletrofílicos (CNUBBEN et al., 2001). Portanto, os mecanismos antioxidantes servem para estabilizar os radicais livres, mantendo a integridade funcional e estrutural das células.

Neste contexto, de acordo com Miller et al. (1993), o estresse oxidativo pode contribuir ou induzir o desenvolvimento de doenças como mastite, retenção de placenta e edema de úbere em animais. Além disso, Côrtes et al. (2012) suplementaram vacas leiteiras com casca de linhaça e/ou óleo de linhaça e investigaram seus efeitos sobre a atividade das enzimas SOD, CAT e GPx no plasma e na glândula mamária dos animais, e verificaram que a casca de linhaça contribui para o aumento de alguns dos genes envolvidos na produção de enzimas no tecido mamário, protegendo esse local contra o estresse oxidativo. Os autores concluíram que a inclusão de casca de linhaça poderia proteger o animal do estresse oxidativo, já que tais mecanismos antioxidantes são de extrema importância para a ação do sistema imune e manutenção da saúde dos animais (McDONALD, 2002).

4 RESULTADOS

4.1 Artigo

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE *Mentha arvensis* L. EM ERITRÓCITOS DE VACAS LEITEIRAS COM MASTITE

Cecilia Gabriela Rubert Possenti^a; Roberta Cattaneo Horn^{a*}; Jorge Damián Stumpfs Diaz^a; Queli Cristina Sostisso Seifert^a; Diego Pascoal Golle^a;

^a Centro de Ciências da Saúde e Agrárias (CCSA), Universidade de Cruz Alta, 98020-290 Cruz Alta – RS, Brasil

-----*marque as alternativas, não apague o texto em azul*-----

Marque uma das alternativas:

- Tenho apenas figuras em tons de cinza
- Tenho figuras coloridas e aceito custo da publicação impressa
- Tenho figuras coloridas, quero publicá-las coloridas apenas online e confirmo que a impressão dessas figuras em tons de cinza não prejudicará a compreensão

Marque uma das alternativas:

- Manuscrito com material suplementar
- Manuscrito sem material suplementar

* E-mail: rcattaneo@unicruz.edu.br

EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTION *Mentha arvensis* L. EXTRACT ERYTHROCYTE OF DAIRY COWS WITH MASTITIS

The aim of this study was to investigate the antioxidant activity of the extract of *Mentha arvensis* L. in erythrocytes of healthy cows (P1); dairy cows with mastitis without pretreatment (P2) and in dairy cows with mastitis and previously treated with antibiotics (P3). The levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), the protein carbonylation (PCs) and reduced (GSH) glutathione in erythrocytes cows were analyzed before and after treatment with the extract of *Mentha*. The results show that after exposure to the plant, the decreased levels of PC in the group P1 and TBARS levels were reduced in the group P1 and P3, in addition, it was found that GSH levels were higher in the group P2, demonstrating *Mentha* that can be used to prevent oxidative damage in healthy cows and cows with mastitis also, but in this case, preferably without prior treatment with antibiotics.

Keywords: Oxidative Stress; Bovine mastitis; *Mentha*.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é considerada uma das mais importantes doenças do gado leiteiro em todo o mundo, por constituir-se na enfermidade que causa os maiores prejuízos ao produtor de leite.^{7,8} Esta patologia caracteriza-se pela inflamação da glândula mamária, geralmente de caráter infeccioso, podendo ser classificada como clínica e subclínica.⁹ Neste contexto, objetivando avaliar a ocorrência de danos oxidativos em vacas leiteiras e com isso a influências dessas injúrias na produção de leite, verificou que o chamado “estresse oxidativo”, em vacas leiteiras periparturientes, contribuiu para o desenvolvimento do edema de mama, hipocalcemia, retenção de placenta, mastite e diminuição na performance reprodutiva dos animais.¹⁰ Em virtude disso, os autores destacam a necessidade de suplementar os bovinos leiteiros com agentes antioxidantes, tais como vitamina E, betacaroteno, glutathione, urato, entre outros. Estes achados, enfatizaram em seus estudos que o edema de mama pode ser proveniente do “estresse oxidativo”, já que os metabólitos reativos de oxigênio não são bem controlados ou metabolizados pelo organismo, nesta situação.¹¹

O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre a quantidade de espécies reativas (ERs) e a capacidade antioxidante celular do organismo.¹⁻³ Quando esse desequilíbrio acontece, pode haver a ocorrência de danos oxidativos em células e tecidos dos animais, causando até mesmo perda de funções biológicas importantes para manutenção da homeostase.⁴ O mesmo pode ser evidenciado pela oxidação da camada lipídica da membrana celular, levando a elevação dos níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e da carbonilação de proteínas (PCs), que pode ser quantificada por método espectrofotométrico. A elevação destes biomarcadores sanguíneo indica um aumento da oxidação proteica e lipídica.⁵

Assim, para que a elevada produção das ERs não cause danos às células, o organismo utiliza o sistema antioxidante, que neutraliza e impede a ação destas espécies altamente reativas. Existem dois tipos de mecanismos antioxidantes, os enzimáticos e os não-enzimáticos. O sistema antioxidante enzimático é composto pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e glutathione reductase (GR). Outros compostos formam o sistema antioxidante não enzimático, são eles: a glutathione reduzida (GSH), o ácido úrico, o ácido ascórbico (vitamina C), o α -tocoferol (vitamina E) e o β -caroteno.^{6,5} Fatores que desequilibram a homeostase orgânica, como as infecções, podem interferir nos processos bioquímicos do organismo, promovendo a ocorrência de formação das ERs.

O gênero *Mentha*, pertencente à família Lamiaceae, compreende cerca de 25 espécies, originárias do velho mundo e adventícias nas Américas.^{12,13} As mentas destacam-se pelo uso

de chás com efeitos medicinais e, principalmente, pelo seu odor e sabor característicos.^{12,14} São plantas perenes, herbáceas, de crescimento rápido, com caules violáceos ramificados, folhas opostas serreadas, flores azuladas, lilases ou esbranquiçadas, dispostas em espigas terminais, e frutos do tipo aquênio.¹² Além disso, as plantas são produtoras de óleos essenciais que estão acumulados em tricomas glandulares das folhas e das inflorescências. Estes óleos essenciais são frações líquidas, voláteis, contendo substâncias que determinam o aroma refrescante destas plantas, muito importantes para a indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia, além de sua utilização na medicina popular.¹⁵ A etnoveterinária busca resgatar os saberes tradicionais, da utilização de plantas medicinais na medicina veterinária, estabelecendo uma conexão entre o saber científico. Ela está relacionada a agroecologia, que visa experiências produtivas ecológicas, para elaborar “uma agricultura sustentável, mais justa, economicamente viável e ecologicamente apropriada”.¹⁶⁻¹⁸ O estabelecimento de agroecossistemas nesta perspectiva passa pelo resgate das práticas tradicionais e a construção participativa de alternativas sustentáveis de produção de base ecológica. Assim, a obtenção de leite em quantidade e qualidade depende de soluções para os problemas sanitários dos rebanhos através de alternativas sustentáveis entre os recursos naturais renováveis, em que o uso de plantas medicinais apresenta grande potencial.¹⁹ Entre os diversos tipos de óleos essenciais utilizados, os produzidos pelo gênero *Mentha* são os mais requisitados, principalmente, o de *Mentha arvensis* L. (menta japonesa, vique), que possui como principal componente o mentol.²⁰ Dificilmente, o homem moderno não faz uso do óleo essencial de *Mentha arvensis* ou de seus derivados, pois, diversos produtos artesanais e industriais utilizam-no na sua formulação.^{21,22,13}

Neste contexto, o presente estudo tem o objetivo de investigar o efeito antioxidante do extrato da *Mentha arvensis* L. em eritrócitos de vacas leiteiras com mastite, utilizando testes “*in vitro*”.

PARTE EXPERIMENTAL

Modelo experimental

Para o experimento, utilizaram-se vacas Holandesas puras (preto com branco) da Agropecuária Irmãos Strobel, do município de Condor, pertencente à região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. A propriedade trabalha com sistema de produção “*free stall*”, recebendo dieta completa *ad libitum*, à base de silagem de milho e concentrado.

Classificaram-se os 75 animais quanto ao seu estado de saúde em 3 grupos distintos: grupo controle (P1), composto por 25 animais saudáveis; grupo 2 (P2), formado por 25 animais com detecção de mastite pelo teste de CMT (*californian mastitis test*) e pela contagem de células somáticas (CCS), sem tratamento de fármacos antibióticos; e grupo 3 (P3), que compreendeu um conjunto de 25 animais com detecção de mastite pelo teste de CMT e pela CCS, mas que passaram por tratamento com fármacos antibióticos há pelo menos três dias antecedendo-se o momento da coleta de sangue.

Preparo do extrato de *Mentha arvensis*

Para a realização desta pesquisa, foram utilizadas folhas e talos de *M. arvensis*, coletadas no mês de Janeiro de 2013, do Horto de Plantas Medicinais da Universidade de Cruz Alta, e identificados com o *voucher* número 1102, exsicata localizada no Herbário da UNICRUZ. Foram coletadas 300 g. da planta, e secas em estufa a 37°C por sete dias, após esse período as plantas foram maceradas e armazenadas em álcool a 70% (v/v) em frasco âmbar por 30 dias. Foram obtidos extratos hidroalcoólicos (EHA) das plantas.²³ Os extratos foram conseguidos pela maceração de 100g de planta seca em 700 mL de álcool a 70% (v/v), onde permaneceram durante 30 dias. Após, foram filtrados em bomba de vácuo, e cada filtrado foi armazenado em frasco âmbar. Para o uso, cada extrato foi submetido à destilação fracionada em rota- evaporador à pressão reduzida para extração do álcool. Após a extração, procedeu-se a reidratação com água destilada e esterilizada em autoclave, reconstituindo a concentração original do extrato. A concentração de diluição utilizada neste estudo foi de 1 mg mL⁻¹.²⁴

Preparo das amostras:

As coletas foram realizadas no mês de janeiro de 2013. Foram coletadas amostras de sangue dos animais por meio de venopunção da veia coccígea, após antisepsia com álcool 70%, utilizando-se agulhas descartáveis e tubos Vacuntainer[®] com adição de EDTA. O sangue coletado foi conservado sob refrigeração a 4°C e centrifugado a 3.000 rpm para retirada do plasma e separação dos eritrócitos. Posteriormente, os eritrócitos foram lavados três vezes com solução tampão de tampão fosfato-salino (PBS). Em seguida, os concentrados de hemácias lavadas foram ressuspensos e diluídos com tampão PBS até atingir um hematócrito de 5%. Após a lavagem dos eritrócitos, foram realizados os tratamentos das amostras das coletas oriundas dos grupos P1, P2 e P3, mantendo-se em um subgrupo somente o

sobrenadante, sem intervenção de nenhum produto e, no outro, a exposição ao extrato de *Mentha arvensis* na concentração de 1 mg mL^{-1} por uma hora. Após este período as amostras foram hemolisadas e centrifugadas, tendo como produto final a separação do sobrenadante, que foi armazenado a -20°C até a realização das determinações analíticas.³²

Determinação de peroxidação lipídica (TBARS)

Determinou-se a peroxidação lipídica de acordo com o método de formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).²⁵ O sobrenadante (0,2 mL) foi adicionado à mistura reacional contendo 1mL de ácido tricloroacético a 28% (v/v); 0,25mL de solução alcalina de ácido tiobarbitúrico (TBA) (0,1mol/L) seguido de aquecimento a 95°C . Após o arrefecimento das amostras e brancos (mistura reacional sem soro), foram realizadas as leituras a 532 nm, comprimento no qual o produto formado, malondialdeído (MDA), pode ser medido. Os resultados foram expressos por nmol/g Hb.

Hemoglobina total

Determinaram-se os níveis de hemoglobina total foi realizada a partir das normas técnicas preconizadas pelo kit Labtest para essa análise, adicionando em um tubo de ensaio 7 mL de água destilada e 30 μL de hemolizado (sobrenadante de lavagem de eritrócitos), após homogeneizando e determinando a absorvância (HbT), realizando a leitura em 415nm. Os resultados foram expressos por Hb.

Proteínas totais e carboniladas

Foi realizada de acordo com Levine²⁶, adaptada para eritrócitos, em que previamente os eritrócitos são preparados com uma diluição de 300 μL de eritrócitos em 2,7 mL de Hepes. Em 50 μL desta amostra diluída realiza-se a determinação das Proteínas Totais com kit comercial Labtest[®] e, em 500 μL deste mesmo eritrócito diluído, realiza-se a determinação das proteínas carboniladas, utilizando 250 μL de tricloroacético (TCA) a 10% (v/v), ácido clorídrico 2N; 2,4-Dinitrofenilhidrazina (DNPH) a 10 mM e dodecil sulfato de sódio (SDS) 3% (m/v), realizando um branco para cada amostra. As leituras dos testes e dos brancos dos

testes foram realizadas em espectrofotômetro visível, em 370 nm. Os resultados foram expressos por nmol de carbonil/mg de proteínas totais.

Glutathiona Reduzida

Determinada a partir da utilização de 100 µL de eritrócitos, 850 µL de tampão fosfato de potássio (TFK) a 1M em pH 7,4 e 50 µL de ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico) (DTNB).²⁷ O procedimento foi realizado em banho de gelo e o DTNB foi adicionado somente no momento da leitura, a qual foi realizada em espectrofotômetro visível, em 412 nm. Os resultados foram expressos por µmol GSH/mL de sobrenadante.

Métodos Estatísticos

A análise de todas as amostras foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos por média ± SEM (erro padrão). Os dados obtidos de todos os grupos estudados, para um mesmo parâmetro, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) de uma via seguido do teste de Tukey-Kramer, considerando as médias significativamente diferentes com um $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em condições patológicas, a produção de ERs excede a capacidade de defesa antioxidante, pois são compostos altamente reativos, danosos aos lipídios, proteínas e ácidos nucléicos.⁶ Este processo é evidenciado pela ocorrência de peroxidação lipídica, ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular, que pode ser dosada pelos níveis de TBARS.⁵ Neste estudo, os níveis de TBARS do grupo P2 e do grupo P3 estavam diminuídos e aumentados antes da exposição com o extrato de *M. arvensis*, respectivamente, quando os mesmos foram comparados ao grupo controle.

[INSERIR FIGURA 1]

Estes resultados mostram uma ocorrência mais acentuada de peroxidação lipídica nas vacas que tinham mastite e receberam tratamento prévio com antibióticos, o que pode indicar o efeito oxidativo do medicamento nas vacas. Além disso, a Figura 1 demonstra que houve uma redução significativa dos níveis de TBARS no grupo P1 e P3 estudados, após a exposição ao extrato da *M. arvensis*. Estes resultados sinalizam efeito antioxidante da planta sobre os

eritrócitos das vacas de leite, sem a mastite instalada e com mastite + tratamento prévio com antibióticos.

Podem ocorrer também ataques das ERs aos aminoácidos que compõem as proteínas e gerar danos como clivagens de ligações com ou sem geração de fragmentos e ligações cruzadas, o que pode ter como consequência a perda de atividade enzimática, dificuldades no transporte ativo através das membranas celulares, citólise e morte celular.²⁸ Corroboram os achados deste estudo, onde essas alterações nos aminoácidos resultam na formação de proteínas carboniladas, as quais são utilizadas como um marcador específico para a mensuração do estresse oxidativo.²⁹

[INSERIR FIGURA 2]

De acordo com a Figura 2, os níveis de proteínas carboniladas nos grupos P2 e P3 antes do tratamento com o extrato da planta estão diminuídos em relação ao grupo controle. Este resultado evidencia que a mastite de não fez aumentar a carbonilação de proteínas, como se esperava. Além disso, ao compararmos estes achados com os resultados dos níveis de TBARS antes da exposição, verifica-se que a peroxidação lipídica foi mais evidente do que a carbonilação de proteínas nas vacas com mastite, provavelmente em função de alterações particulares desta patologia (Fig. 2). Por outro lado, verifica-se que a exposição ao extrato da *M. arvensis* favoreceu a diminuição das PCs do grupo controle, o que não ocorreu com os grupos P2 e P3 após o tratamento com a planta, que mantiveram seus níveis não alterados significativamente antes e depois do tratamento com o extrato. Mesmo assim, tendo em vista os resultados encontrados, verifica-se que o extrato pode servir como medida preventiva para evitar o aumento de danos lipídicos e proteicos em animais saudáveis, tornando os organismos menos suscetíveis a alterações fisiológicas que favoreceriam o desenvolvimento de patologias secundárias.

[INSERIR FIGURA 3]

Além disso, a Figura 3 mostra que os níveis de GSH, diminuíram nos grupos P1 e P3, e aumentaram no grupo P2 antes da exposição com o extrato de *M. arvensis*. Esses resultados mostram que o extrato utilizado teve efeito benéfico sobre as defesas antioxidantes das vacas leiteiras do grupo P2, que tinham mastite e não estavam sob tratamento prévio com antibióticos, o que mostra um provável efeito antagônico da planta estudada com o antimicrobiano utilizado. Além disso, com esses resultados, pode-se inferir que o extrato de

M. arvensis tem satisfatório efeito antioxidante nas vacas com mastite sem tratamento, pois aumenta o principal agente antioxidante não enzimático, o qual participa da detoxificação de agentes químicos e da eliminação de produtos da lipoperoxidação, tendo como principal capacidade a neutralização das ERs com grande eficiência e rapidez.^{30,5} Neste contexto, os estudos relatam o efeito negativo das ERs no metabolismo e na saúde das vacas leiteiras.³¹ Pode-se ponderar, a partir destes dados observado, sobre a utilização do extrato de *M. arvensis* tanto para a prevenção como para o tratamento da mastite bovina, a fim de diminuir o efeito dos radicais livres.

Com relação à utilização do antibiótico na mastite bovina, a partir deste estudo verifica-se uma evidente ocorrência de estresse oxidativo no organismo do animal oriundo da ação medicamentosa, já que houve um aumento da GSH no grupo P3, provavelmente em resposta ao aumento do TBARS também neste grupo. Este fator pode favorecer o desenvolvimento de outras patologias, tendo em vista que existem evidências que o “estresse oxidativo” pode contribuir com a manifestação de edema de mama e com as alteração do desempenho reprodutivo em bovinos da raça Holandesa preta e branca, sendo importante a descobertas de alternativas para o tratamento da mastite sem agravar ainda mais o quadro clínico do animal.¹⁰

CONCLUSÃO

De uma maneira geral, o aumento da GSH juntamente com a redução dos níveis dos marcadores oxidativos após o tratamento com o extrato de *Mentha arvensis* L., demonstram uma ação antioxidante frente aos eritrócitos de bovinos leiteiros, principalmente nas vacas saudáveis e nas vacas com mastite e sem tratamento prévio com antiobioticos.

AGRADECIMENTOS

Para a Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ) pelo apoio e disponibilidade de instalações e CNPq de apoio financeiro na forma de bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS

1. Sies, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp. Physiology* **1997**, 82, 2, 291-295.

2. Finkel, T; Holbrook, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* **2000**, 9, 408, 239-247.
3. Scandalios, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz. J. of Med. and Bio. Research* **2005**, 38, 7, 995-1014.
4. Devasagayam, T.P. *et al.* Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Phys India* **2004**, 52, 794–804.
5. Barbosa, K. B. F. *et al.* Estresse Oxidativo: Conceito, Implicações e Fatores Modulatórios. *Revista de Nutrição* **2010**. Campinas, 23, 629-643.
6. Barreiros, A.L.B.S; David, J.M; David, J.P. Estresse Oxidativo: Relação entre Geração de Espécies Reativas e Defesa do Organismo. *Quím. Nova* **2006**, 29, 1, 113-123.
7. Simson, C. R. M *et al.* *Manual Merck de Veterinária: Um manual de diagn., trat., prev. e controle de doenças para o Veterinário*. São Paulo: Roca Ltda, 1997.
8. Ribeiro, S. M. R. *et al.* A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico, *Biosci.J.* **2005**, Uberlândia, 24, 3, 133-149.
9. Philpot, W. N; Nickerson, S. C. *Vencendo a luta contra a mastite*. São Paulo: Milkbuzz, 2002.
10. Miller, T. P.; Tucker, W. B.; Hogue, J. F.; Shin, I.S.; Adams, G.D. Effects of calcium chloride on prepartum udder edema and plasma and urine electrolytes in Holstein heifers. *Animal Science Research Report* **1993**, Stillwater, 933, 167-174.
11. Miller, J.K., E. Brzezinska-Slebodzinska, F.C. Madsen. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J. Dairy Sci.* **1993**, 76, 2812.

12. Watanabe, C. H. et al. Extração do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. *Rev. Bras. de Plantas Mediciniais* **2006**, Botucatu, 8, 4, 76-86.
13. Garlet, Tânea Maria Bisognin et al. Produção e qualidade do óleo essencial de menta em hidroponia com doses de potássio. *Cienc. Rural.* **2007**, 37, 4, 956-962.
14. Lorenzi, H.; Matos, F. J. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p. 246-251. 2002.
15. Paulus, D. *et al.* Teor e qualidade do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) produzida sob cultivo hidropônico e em solo. *Rev. Bras. de Plantas Mediciniais* **2007**, Botucatu, 9, 2, 80-87.
16. Sevilla-Guzman, E. Uma estratégia de sustentabilidade a partir da agroecologia. *Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável* **2001**, 2, 35-45.
17. Lebel, J. *Health: an ecosystem approach*. Ottawa, Canadá: IDRC, 85 p. 2003.
18. Wanzala, W. et al. Ethnoveterinary medicine: a critical review of its evolution, perception, understanding and the way forward. *Livestock Research for Rural Development* **2005**, 17,1102-04.
19. Caporal, F. R.; Costabeber, J. A. Construindo uma nova extensão rural no Rio Grande do Sul. *Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável* **2002**, Porto Alegre, 3, 4, 10-15.
20. Shanker, S.; Ajaykumar, P. V.; Sangwan, N. S.; Kumar, S.; Sangwan, R. S. Essential Oil Gland Number and Ultrastructure During *Mentha arvensis* Leaf Ontogeny. *Biol. Plant.* **1999**, 42, 379.
21. Sharma, S.; Sangwan, N.S. AND Sangwan, R.S. Developmental process of essential oil glandular trichome collapsing in menthol mint. *Current Science* **2003**, 84, 544.

22. Croteau, R.B.; Davis, E.M.; Ringer, K.L.; Wildung, E.M. (-)-Menthol biosynthesis and molecular genetics. *Naturwissenschaften* **2005**, *92*, 562–577.
23. *Farmacopéia Européia*, 3^a ed. São Paulo: Atheu Editora Ltda., 1979.
24. Gonçalves, D. *Química orgânica experimental*. São Paulo: McGraw-Hill, 1990.
25. Stock J. AND Dormandy T. L. The autooxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Brit. J. Haematol.* **1971**, *20*, 95-111.
26. Levine RL. Determination of carbonil in oxidatively modified proteins. *Meth. Enzymol.* **1990**, *186*:468-78.
27. Ellman GL. Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys* **1959**, *82*:70-7.
28. Jordão J. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. *Med. Ribeirão Preto* **1998**, *31*, 434-449.
29. Jamel, M. J. Dosagem da proteína carbonilada sanguínea como biomarcador específico do estresse oxidativo após reperfusão intestinal em ratos. *Acta. Cirg. Bras.* **2010**, *25*, 59-62.
30. Augusti, P.R. et al. Astaxanthin reduces oxidative stress, but not aortic damage in atherosclerotic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* **2009**, *14*, 314-22.
31. Miller, J. K.; Brzezinska-Slebozinska, E.; Madsen, F. C. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of Dairy Science*, **1993**, *76*, 2812-2823.
32. Catalgol, B. K.; Ozden, S.; Alpertunga, B. Effect of trichlorfon on malondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. *Toxicol In Vitro.* **2007** v.21, n.8, p.1538-44.

Lista de legendas e figuras

Figura 1. Dosagem dos níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em nmol/gHb, nos eritrócitos de vaca leiteiras expostas ao Extrato de Mentha arvensis (1mg/mL) por 1 hora. P1: níveis de TBARS do grupo controle; P2: níveis de TBARS dos bovinos com mastite e sem tratamento P3: níveis de TBARS das vacas com mastite com tratamento prévio. Os valores foram expressos por média \pm erro padrão, com um n=25 por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste Tukey-Kramer a 5% de probabilidade de erro. Letras distintas representam resultados estatísticos significativamente diferentes. Cruz Alta, RS, Universidade de Cruz Alta, 2014.

Figura 2 - Níveis de proteínas carboniladas (PCs) em nmol carbonil/mg prot totais nos eritrócitos de bovinos de leite expostos ao Extrato de Mentha arvensis (1mg/mL) por 1 hora. P1: níveis de PCs do grupo controle; P2: níveis de PCs dos bovinos com mastite e sem tratamento P3: níveis de PCs das vacas com mastite com tratamento prévio. Os valores foram expressos por média \pm erro padrão, com um n=25 por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste Tukey-Kramer a 5% de probabilidade de erro. Letras distintas representam resultados estatísticos significativamente diferentes. Cruz Alta, RS, Universidade de Cruz Alta, 2014.

Figura 3 - Níveis de Glutathiona Reduzida (GSH) em μ mol GSH/mL, nos eritrócitos de bovinos de leite expostos ao extrato de Mentha arvensis (1mg/mL) por 1 hora. P1: níveis de GSH do grupo controle; P2: níveis de GSH dos bovinos com mastite e sem tratamento P3: níveis de GSH das vacas com mastite com tratamento prévio. Os valores foram expressos por média \pm erro padrão, com um n=25 por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste Tukey-Kramer a 5% de probabilidade de erro. Letras distintas representam resultados estatísticos significativamente diferentes. Cruz Alta, RS, Universidade de Cruz Alta, 2014.

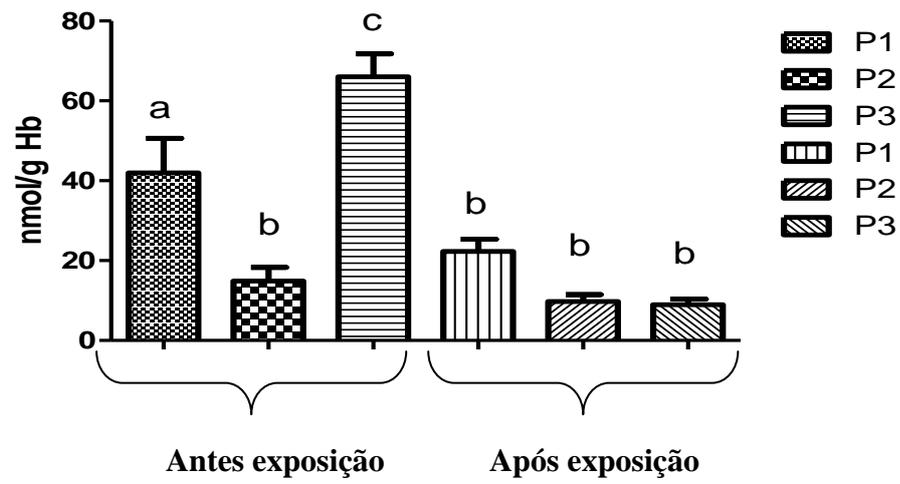


Figura 1

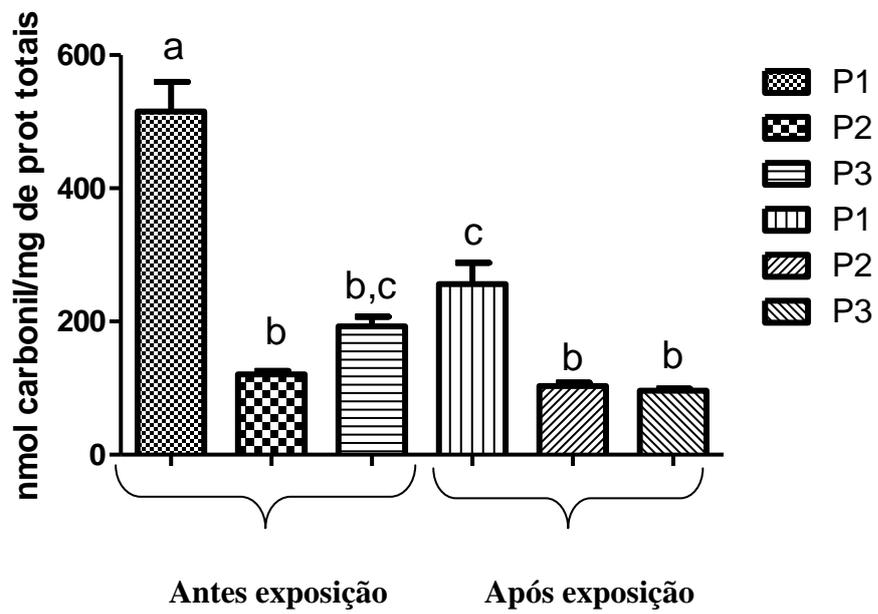


Figura 2

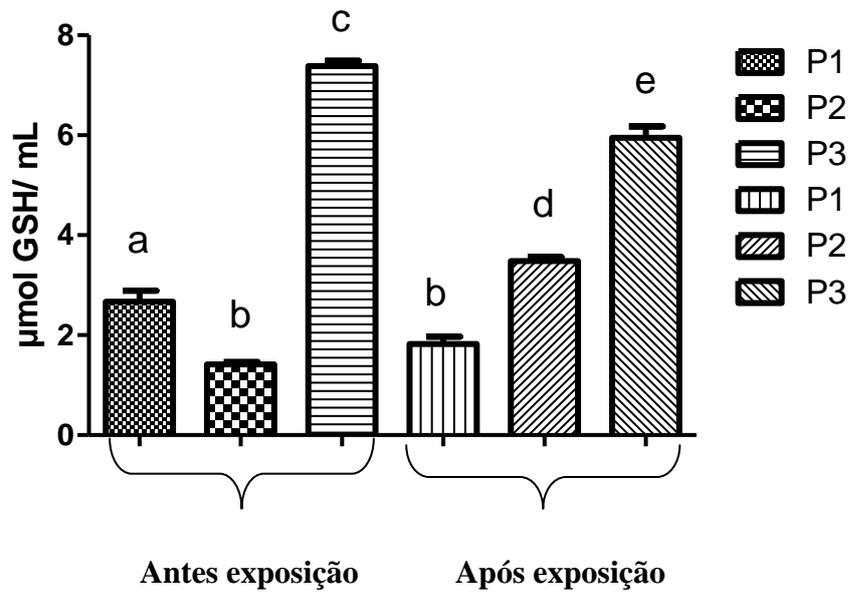


Figura 3

5 CONCLUSÕES

- Nos níveis de TBARS, nos grupos P1 e P3 ocorreu uma redução após o tratamento com o extrato da *M. arvensis*, o que demonstra que planta possui ação antioxidante sobre os eritrócitos de vacas leiteiras.
- Ao analisar os níveis de PCs, marcador oxidativo, antes e após a exposição ao extrato de *M. arvensis* percebe-se diferença significativa de redução dos níveis de estresse oxidativo no grupo controle.
- O aumento da GSH juntamente com a redução dos níveis dos marcadores oxidativos após o tratamento com o extrato de *Mentha arvensis* L., demonstram uma ação antioxidante frente aos eritrócitos de bovinos leiteiros, principalmente nas vacas saudáveis e nas vacas com mastite e sem tratamento prévio com antibióticos.
- Estudos toxicológicos mais aprofundados precisam ser realizados para que o uso dessa planta possa ser utilizado como um suplemento antioxidante na dieta de vacas leiteiras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHI, M. et al. Oxidative Stress and Cholinesterase Inhibition in Saliva and Plasma of Rats Following Subchronic Exposure to Malathion. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.137, p.29-34, 2004.

AFLATUNI, A. **The yield and essential content of mint (*Mentha ssp*) in northern Ostrobothnia**. 2005. 50 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) Departamento de Biologia, Universidade de Oulu, Finlândia. Oulu, 2005.

AHMAD, I.; HAMID, T.; FATIMA, M.; CHAND, H.S.; JAIN, S.K.; ATHAR, M.; RAISUDDIN, S. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1523, p. 37-48, 2000.

ALY, N.; EL-GENDY, K.; MAHMOUD, F.; EL-SEBAE, A.K. Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 97, p. 7-12, 2010.

AMES, B.N., SHIGENAGA, M.K., HAGEN, T.M. Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington DC, v.90, n.17, p.7915-7922, 1993.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v.350, n.1, p.103-108, 1996.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse Oxidativo: Conceito, Implicações e Fatores Modulatórios. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 23, p. 629-643, 2010.

BASKIN, C.R.; HINCHCLIFF, K.W.; DISILVESTRO, R.A.; REINHART, G.A.; HAYER, M.G.; CHEW, B.P.; BURR, J.R.; SWENSON, R.A. Effects of dietary antioxidante supplementation on oxidative damage and resistance to oxidative damage during prolonged exercise in sled dogs. **American Journal of Veterinary research**. v.61, n.8, p. 886-91, 2000.

BERNABUCCI U, RONCHI B, LACETERA N *et al.* Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. **J Dairy Sci** **88**, 2017-2026. 2005.

BOTA, D.A.; REMMENN, H.V.; DAVIES, K.J.A. Modulation of Lon Protease Activity and Aconitase Turnover During Aging and Oxidative Stress. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 532, p.103-106, 2002.

BOUAZIZ, A. et al. Enzymatic propyl gallate synthesis in solvent-free system: Optimization by response surface methodology. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 67, p. 242-250, 2010.

BRILHO, R. C. **A cultura da hortelã pimenta**. Manual Técnico do Engenheiro Agrônomo. Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, SP, 13p. 1963.

CASTILLO, C., HERNANDEZ, J., BRAVO, A., LOPEZ-ALONSO, M., PEREIRA, V., BENEDITO, J.L.,. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. **Vet. J.** 169, 286-292. 2005.

CNUBBEN, N.H.P.; RIETJENS, I.M.C.M.; WORTELBOER, H.; ZANDEN, J.; BLADEREN, P.J. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 10, p. 141-152, 2001.

CONNER D.E. Naturally occurring compounds. In: DAVIDSON, P.M.; BRANEM, A. L. (Org. ou Ed.). **Antimicrobials and Foods**. New York: Dekker, pp. 441-468. 1993.

CÔRTEZ, C., PALIN, M-F., GAGNON, N., BENCHAAAR, C., LACASSE, P., PETIT, H. V. Mammary gene expression and activity of antioxidant enzymes and concentration of the mammalian lignan enterolactone in milk and plasma of dairy cows fed flax lignans and infused with flax oil in the abomasum. **British Journal of Nutrition**, v. 3, p.1-9. 2012.

COSTA, R.A.P. et al. The role of mitochondrial DNA damage in the cytotoxicity of reactive oxygen species. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, Nova lorque, v. 43, p. 25-29, 2011.

CZEPAK, M. P. Produção de óleo bruto e mentol cristalizável em oito frequências de colheita de Menta (*Mentha arvensis* L.). In: MING, L.C. et al. (Ed.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, p. 53-80, v.2. 1995.

DAVID, E. F. S; MISCHAN, M. M.; BOARO, C. S. F. Desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de menta (*Mentha x piperita* L.) cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. **Revista Biotemas**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 15-26, 2007.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia. **Ciência e Cultura**. v. 55, n. 3, São Paulo, jul./set., 2003.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Relatório de atividades 2012**. Brasília/DF, 2013.

FERREIRA, D. T. Antimicrobial activity and chemical investigation of Brazilian *Drosera*. **Mem. Inst. Inst. Oswaldo Cruz**. v. 99, n. 7, p. 753-755, 2004.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 8, 1997.

FREITAS, P.C.D. **Atividade antioxidante de espécies medicinais da família Piperaceae: Pothomorphe umbellata (L) Miq e Piper regnellii (Miq) CDC**. São Paulo, 115p. Tese de Doutorado em Farmácia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 1999.

FOCKE, W. W. et al. The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. **Fuel**, Londres, v. 94, p. 227-223, 2012.

GARCIA, E. S., SILVA, A. C. P., GILBERT, B., CORRÊA, C. B. V., CAVALHEIRO, M. V. S., SANTOS, R. R., TOMASSINI, T. **Fitoterápicos**. Cap.10. 2005.

GARLET, et al. Produção e qualidade do óleo essencial de menta em hidroponia com doses de potássio, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 956-962, 2007.

GIACOMETTI, D. C. **Ervas condimentares e especiarias**. São Paulo: Nobel, 1989.

GUERRA, E.J.I. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. **Medicina Interna**, v.18, p.326-35, 2001.

GÜLÇİN, Í.; ELMASTAŞ, M.; ABOUL-ENEIN, H.Y. Scavenging activity of basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) assayed by different methodologies. **Phytotherapy Research**, Londres, v. 21, p. 354-361, 2007.

HALLIDAY, G.; BEADLE, M. **Flora Europaea**. London: Cambridge, v.3, p.185-186, 1972.

HERBOTECNIA. Tecnologías de cultivo y poscosecha de plantas medicinales, aromáticas y tintóreas. **Mentha arvensis**. Disponível em: <<http://www.herbotecnia.com.ar/exotica-mentajaponesa.html>>. Acesso em: 13 janeiro 2014.

HURLEY, W.L., MORIN, D.E. Factors affecting susceptibility to mastitis. Lactation biology. [On line]. Disponível: <<http://www.classes.aces.uiuc.edu/AnSci308/>> . Acesso EM : 21 de JANEIRO de 2014.

ISIK, I.; CELIK, I. Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 92, p. 38-42, 2008.

JAMSHIDIAN, M. et al. Effects of synthetic phenolic antioxidants on physical, structural, mechanical and barrier properties of poly lactic acid film. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, p. 1763-1773, 2012.

JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: **Nacional**, p.583-586. 1983.

KUMAR, S.; BAHL, J.R.; BANSAL, R.P.; GUPTA, A.K.; SINGH, V.; SHARMA, S. High economic returns from companion and relay cropping of bread wheat and menthol mint in the winter-summer season in north Indian plains. **Industrial Crops and Products**, v.15, p.103-114, 2002.

LAUZON, K.; ZHAO, X.; LACASSE, P. Deferoxamine reduces tissue damage during endotoxin-induced mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3846-3857, 2006.

LI, W.; YIN, D.; ZHOU, Y.; HU, S.; WANG, L. 3,4-Dichloroaniline-induced oxidative stress in liver of crucian carp (*Carassius auratus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, p. 251-255, 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p. 246-251. 2002.

MARQUES, C. A. Importância econômica da família Laureaceae Lindl. **Floresta e ambiente**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 1, p. 195-206, 2001.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2. ed. Fortaleza: UFC, p. 346, 2000.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais** – guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 1. ed. Fortaleza: UFC, 2002.

LEVINE, R.L. Carbonyl modified proteins in celular regulation aging in disease. **Free Radical Biology e Medicine**, v.32, n.9, p.790-796, 2002.

LUNEC, J.; HOLLOWAY, K.A.; COOKE, M.S.; FAUX, S.; GRIFFITHS, H.R.; EVANS, M.D. Urinary 8-oxo-2'-deoxyguanosina: redox regulation of DNA repair in vivo? **Free Radical Biology and Medicine**, NY, v.33, n.7, p.875-885, 2002.

MOTA, D. S. O. & RODRIGUES, V. G. **Plantas Mediciniais**. Subprojeto **Instalação de horto-matriz de plantas medicinais em Porto Velho-RO**. Embrapa Rondônia. Folder 08 -Série "Plantas Mediciniais", dezembro 2001. Disponível em: <http://www.cpafrro.embrapa.br/embrapa/infotec/hortela_jap.PDF>. Acesso em: 25 janeiro 2014.

NOCKELS, C. F. Antioxidants improve cattle stress immunity following. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 62, p. 10, 1996.

NORDBERG, J.; ARNÉR, E.S.J. Reactive Oxygen Species Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. **Free Radical Biology and Medicine**, NY, v.31, n11, p1287-1312, 2001.

OKA C. & ROPERTO A. **Hortelã**. Herbário Aquiléa. Disponível em: <<http://www.cotianet.com.br/eco/HERB/hort.htm>>. Acesso em: 5 março 2014.

ORUÇ, E.Ö.; ÜNER, N. Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part C**, v. 127, p. 291-296, 2000.

PAULUS D. *et al.* Substratos na produção hidropônica de mudas de hortelã. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 48-50, 2005.

PEANA A. T. *et al.* Linalool inhibits in Vitro. No formation: Probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound. **Life Science**, [S.I.], v. 78, p. 719-723, 2006.

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

PIO-CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Vol. IV. 2a ed. Rio de Janeiro, Min. Agricultura, IBDF, p. 688 – 706. 1978.

POLITI, F. A. S.; PIETRO, R. C. L. R.; MOREIRA, R. R. D. **Estudos farmacognósticos e avaliação de atividades biológicas de extratos obtidos das cascas pulverizadas de *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. (Humiraceae)**. 2009. 144p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de fármacos e medicamentos) – Programa de Pós-graduação, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2009.

POULSEN, H.E., PRIEME, H., LOFT, S. Role of Oxidative DNA Damage in Cancer Initiation and Promotion. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v.7, n.1, p.9-16, 1998.

RIBEIRO, S.M.R; QUEIROZ, J.H.; PELÚZO, M.C.G; COSTA, M.N.B; MATTA, S.L.P.; QUEIROZ, M.E.L.R. A Formação e os Efeitos de Espécies Reativas de Oxigênio no Meio Biológico. **Rev. BJ**, v.21, n.3, 2005.

ROVER, Jr. L.; HÖER, N.F.; VELLASCO, A.P.; KUBOTA, L.T. Sistema Antioxidante Envolvendo o Ciclo Metabólico da Glutathione Associado a Métodos Eletroanalíticos

na Avaliação do Estresse Oxidativo. **Revista Química Nova**, v. 24, p. 112-119, 2001.

SANTOS, P.R.V.; OLIVEIRA, A.C.X.; TOMASSINI, T.C.B. **Controle microbiológico de produtos fitoterápicos**. Rev. Farm. Bioquím. 31, 35-38, 1995.

SANTOS, S. R. **Menta**. Agricultura, Brasil-Oeste, 4 p. 1965.

SAYEED, I.; PARVEZ, S.; PANDEY, S.; BIN-HAFEEZ, B.; HAQUE, R.; RAISUDDIN, S. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, p. 295-301, 2003.

SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G. R.; **Free Radical**.Biol.Med, 2001.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. de. Radicais Livres de Oxigênio e Exercício: Mecanismos de Formação e Adaptação ao Treinamento Físico. **Revista Brasileira de Medicina e Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

SCHUCK, V. J. A. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 37, n. 1, 2001.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, p. 213-219, 1993.

SIMÕES, C.M.O. E SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN,G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento*. 5 ed. Porto Alegre: **Editora da UFRGS**, cap. 18, p. 467-495. 2003.

SOUSA JÚNIOR, de (2000). **Efeito de diferentes doses de extratos orgânicos e NPK sobre a produção de biomassa no desenvolvimento da parte aérea da erva cidreira (*Melissa officinalis* L.)**. Mossoró: ESAM. Monografia (Graduação em Agronomia) – Departamento de Fitossanidade, Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 2000.

SPEARS, J. W.; WEISS, W. P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. **The Veterinary Journal**, [S.l.], v. 176, n. 1, p. 70-76, 2008.

THEOROND, P.T.; ROUSSETTOT, D.B.; SPRAUL, A.D.; CONTI, M.; LEGRAND, A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. **Current Opinion Clinical Nutrition Metabolic Care**, p.373-384, 2000.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, p. 57-149, 2003.

VASCONCELOS SML, GOULART MOF, MOURA JBF *et al.* Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: main analytical methods for their determination. **Quim Nova** **30**, 13231338. 2007.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (Org). 2001. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 523 p. 2001.

WEISS, W.P. Antioxidant nutrients, cow health, and milk quality. In: **Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop**, 2005, Grantville, PA, p. 11-18. 2005.

WANG, J. et al. Detection and comparison of reactive oxygen species (ROS) generated by chlorophyllin metal (Fe, Mg and Cu) complexes under ultrasonic and visible-light irradiation. **Ultrasonics Sonochemistry**, Oxford, v. 18, p. 1028-1034, 2011.

WATANABE, C. H. et al. Extração do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 76-86, 2006.

ANEXOS

NORMAS Revista Química Nova

Versão Impressa

Manuscritos de áreas afins devem apresentar novidades ou desenvolvimentos que sejam de relevância para a área da Química.

Produtos Naturais

- As contribuições devem demonstrar claramente resultados inéditos que contribuam com o desenvolvimento da área. Assim, em consonância com a maioria dos periódicos da área, não serão mais aceitos manuscritos que somente descrevam o isolamento de substâncias conhecidas e de ocorrência geral em organismos, bem como manuscritos reportando testes biológicos ou bioquímicos em extratos e frações cromatográficas, sem identificação do princípio ativo.
- Composições de óleos essenciais e voláteis em plantas poderão ser aceitos, desde que não sejam referentes à análise de um único espécime (indivíduo); também são necessários estudos estatísticos e/ou quimiométricos para comprovação das diferenças ou semelhanças entre as composições químicas descritas nestes estudos.

Química Analítica

- Artigos que descrevem validação de métodos sem a sua aplicação, bem como o uso de técnicas e métodos rotineiros, não serão mais aceitos.
- Artigos que descrevem o uso de técnicas de separação (ex. cromatografia, eletroforese capilar) para a identificação de apenas um analito serão aceitos apenas caso haja justificativas quanto a efeito matriz ou importância analítica da substância em estudo.
- A novidade do estudo deve ser claramente realçada e os aspectos químicos claramente apresentados.

Química Ambiental

Não serão aceitos artigos:

- que tratem exclusivamente da caracterização de amostras (ecossistemas ou ainda matrizes ambientais) representativas dos principais compartimentos ambientais do planeta, ou seja, águas, sedimentos, ar e solos.
- que relatem atividades de monitoramento ambiental, ou que façam uso de ferramentas de análise multivariada (quimiometria) para simplesmente avaliar tendências ou comportamentos, caso não haja uma interpretação aprofundada dos resultados à luz de processos ambientais.
- sobre processos de tratamento de poluentes que não tenham enfoque majoritário em aspectos químicos inovativos.

- que abordem processos estabelecidos, nos quais avalia-se somente o efeito de parâmetros experimentais sobre a eficiência e/ou cinética, assim como emprego em diferentes classes de compostos e/ou matrizes.

Biodiesel

Não serão aceitos artigos:

- de síntese de biodiesel por catálise homogênea clássica que tenham como novidade somente a matéria prima ou a otimização.
- sobre a estabilidade de biodiesel, sem novidades na área química.

Química dos Materiais e Nanoquímica

As contribuições devem demonstrar claramente os diferentes aspectos químicos relacionados à preparação, caracterização, estudo de propriedades e aplicações de materiais ou nanomateriais.

Não serão aceitos artigos:

- cujos aspectos químicos não estejam devidamente demonstrados.
- que tratem exclusivamente de aspectos de Engenharia dos Materiais (como, por exemplo, apresentando apenas propriedades mecânicas, elétricas, óticas, etc.)
- que sejam incrementais, cuja novidade seja somente a matéria-prima estudada (como, por exemplo, carvões obtidos a partir da pirólise de casca de coco, ou casca de arroz, ou casca de bambu, etc.) ou a fonte do material.

Copyright ©2012 Sociedade Brasileira de Química

Para publicação, requer-se que os manuscritos submetidos a esta revista não tenham sido publicados anteriormente e não sejam submetidos ou publicados simultaneamente em outro periódico. Ao submeter o manuscrito, os autores concordam que o copyright de seu artigo seja transferido à Sociedade Brasileira de Química (SBQ), se e quando o artigo for aceito para publicação. O copyright abrange direitos exclusivos de reprodução e distribuição dos artigos, inclusive separatas, reproduções fotográficas, microfilmes ou quaisquer outras reproduções de natureza similar, inclusive traduções. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, armazenada em bancos de dados ou transmitida sob qualquer forma ou meio, seja eletrônico, eletrostático, mecânico, por fotocópia, gravação, mídia magnética ou algum outro modo, sem permissão por escrito da detentora do copyright. Embora todo esforço seja feito pela SBQ, Editores e Conselho Editorial para garantir que nenhum dado, opinião ou afirmativa errada ou enganosa apareçam nesta revista, deixa-se claro que o conteúdo dos artigos e propagandas aqui publicados são de responsabilidade, única e exclusiva, dos respectivos autores e anunciantes envolvidos. Conseqüentemente, a SBQ, o Conselho Editorial, os Editores e respectivos funcionários, diretores e agentes isentam-se, totalmente, de qualquer responsabilidade pelas conseqüências de quaisquer tais dados, opiniões ou afirmativas erradas ou enganosas.

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

GERAL

Serão considerados para publicação na Revista Química Nova manuscritos em Português, Inglês e Espanhol, que cubram as áreas tradicionais da Química bem como artigos sobre Ensino de Química, História da Química, Política Científica, etc, além de artigos de áreas afins, desde que tenham acentuado conteúdo químico (clique [aqui](#) para acessar as normas de restrição). Os trabalhos devem se encaixar dentro de uma das modalidades abaixo:

Artigos Originais: refere-se a trabalhos inéditos de pesquisa. Devem seguir a forma usual de apresentação, contendo as seções Introdução, Parte Experimental, Resultados e Discussão, Conclusão e Referências, de acordo com as peculiaridades de cada trabalho. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas e outros elementos.

Artigos sobre Educação: trabalhos de pesquisas relacionadas ao ensino de Química e divulgação de experiências inovadoras no ensino de graduação e pós-graduação. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, e outros elementos.

Notas Técnicas: trabalhos de comunicação de métodos, técnicas, aparelhagens ou acessórios desenvolvidos no laboratório de origem do autor do manuscrito, desde que apresentem acentuado conteúdo químico. Devem seguir a forma usual de apresentação, contendo as seções Introdução, Parte Experimental, Resultados e Discussão, Conclusão e Referências, de acordo com as peculiaridades de cada trabalho. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

Assuntos Gerais: abordagem de assuntos de interesse geral dos químicos, tais como política científica, programas de graduação e pós-graduação, história da química, etc. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas e outros elementos.

Artigos de Revisão: destinados à apresentação do progresso em uma área específica de Química, com o objetivo de dar uma visão crítica do estado da arte do ponto de vista do especialista altamente qualificado e experiente. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas e outros elementos.

Para submeter um artigo de Revisão, é imprescindível que o autor tenha publicações que comprovem a sua experiência e qualificação na referida área. Antes do envio do manuscrito, o autor deverá submeter à editoria, por e-mail, um resumo da revisão pretendida e lista de publicações, acompanhados de uma carta explicativa da pertinência do trabalho. O material será analisado pelos Editores e, uma vez aprovado, será solicitado ao autor o envio do manuscrito completo, dentro das normas de QN, e só então será dado início ao processo de

avaliação pelos assessores. O aceite da submissão não garante a publicação do manuscrito, que passará pelo processo formal de avaliação equivalente ao das outras modalidades.

ANTES DA SUBMISSÃO

Direitos autorais

Ao submeter um manuscrito à revista Química Nova, assume-se que ele não foi publicado previamente, que não está sob processo de avaliação por outra entidade e que não será publicado simultaneamente em outro veículo de divulgação, no mesmo formato, sem a permissão por escrito dos Editores. Além disso, subentende-se que o autor responsável pela submissão tem o consentimento de todos os outros autores. Os autores também concordam que os direitos autorais do manuscrito serão transferidos para a Sociedade Brasileira de Química (SBQ), caso o manuscrito seja aceito para publicação. Manuscritos aceitos e ilustrações se tornarão propriedades da SBQ.

Organização do manuscrito

Os manuscritos deverão apresentar clareza e concisão. A seção Introdução deverá identificar de forma clara e breve, utilizando-se de referências relevantes, a natureza do problema sob investigação e o conhecimento prévio a respeito dele.

A seção Parte Experimental pode preceder ou vir após a seção Resultados e Discussão, mas devem ser necessariamente separadas. A seção Conclusões, que resumirá brevemente as principais conclusões do trabalho, deverá ser disposta logo após a seção Resultados e Discussão.

A parte experimental do manuscrito deve descrever os experimentos de maneira suficientemente detalhada para que outros pesquisadores possam reproduzi-los. O grau de pureza dos materiais utilizados deve ser fornecido, bem como todas as quantidades utilizadas. A descrição de procedimentos já estabelecidos não é necessária. A instrumentação utilizada só deve ser descrita caso não seja padrão. Deve-se referir a instrumentos disponíveis comercialmente a partir de suas marcas e modelos.

Todos os compostos novos devem ser completamente caracterizados, incluindo dados espectroscópicos e análises elementares. Espectros de massas de alta resolução poderão substituir análises elementares caso sejam acompanhados de provas inquestionáveis da pureza da amostra (pontos de fusão, cópias dos espectros RMN, etc.). Para compostos sintetizados em formas enantiomericamente puras ou enantiomericamente enriquecidas, sua rotação específica deverá ser fornecida. Nos casos em que o excesso enantiomérico for determinado por técnicas cromatográficas e/ou espectroscópicas, as cópias dos cromatogramas e/ou espectros devem ser inclusas no Material

Suplementar (ver seção Material Suplementar).

Muitas publicações de Química Teórica e/ou Computacional utilizam rotinas baseadas em métodos bem documentados, sejam semi-empíricos ou *ab initio*. Neste caso é suficiente citar a variante utilizada, referindo-se a publicações importantes nas quais os métodos foram desenvolvidos, e o programa de computador utilizado, indicando brevemente as modificações realizadas pelo autor.

É de responsabilidade dos autores a obtenção de permissões para reprodução de gráficos e imagens retiradas de outros periódicos. Essas permissões para reprodução devem ser enviadas por e-mail à Editoria da Química Nova. A reprodução deve também ser informada nas respectivas legendas.

Os manuscritos em língua inglesa que forem considerados para avaliação deverão, no envio da versão revisada, portar certificado de correção de idioma emitido por empresa especializada. O certificado deve ser enviado por e-mail para sbqedit@sbq.org.br.

Os Editores poderão solicitar o certificado a qualquer momento do processo de avaliação caso julguem necessário. Dessa forma, os autores interessados em submeter manuscritos em língua inglesa devem estar cientes dessa possibilidade.

Preparo dos manuscritos

Geral

Um modelo de artigo (.doc) já formatado de acordo com as normas da Química Nova pode ser obtido [aqui](#).

Deve-se utilizar a fonte Times New Roman, tamanho de 12 pt e cor preta. O espaçamento entre linhas deve ser de 1,5x. As páginas devem ser numeradas consecutivamente, no canto inferior direito. As linhas e os títulos e subtítulos das seções não devem ser enumerados. Os títulos das seções devem ser escritos em negrito e caixa alta, os subtítulos apenas em negrito e os subsubtítulos apenas em itálico.

Os elementos gráficos, tabelas e suas respectivas legendas devem vir ao final do artigo. Deve-se indicar, no texto, onde o elemento deve aparecer após a diagramação, utilizando as *tags* entre colchetes. Esses elementos devem aparecer o mais próximo possível de onde foram citados pela primeira vez.

Alguns exemplos:

(...) A Figura 1 mostra o sistema utilizado na primeira etapa do

processo.

[FIGURA 1]

Os valores obtidos a partir do experimento encontram-se na Tabela 1.

[TABELA 1]

O Material Suplementar deve ser o último elemento do manuscrito, e deve conter informações relevantes e complementares àquelas já apresentadas no manuscrito (ver seção Material Suplementar).

Detalhes

A primeira página deverá conter o graphical abstract (ver seção Graphical Abstract), título do trabalho, em negrito e caixa alta, nome dos autores em negrito e endereço. Havendo autores com diferentes endereços, estes deverão ser listados em sequência e indicados utilizando-se letras sequenciais.

Um exemplo:

José A. Benício^a, Maria C. Cavalcante^b e João D. de Almeida^{*,a}

^a Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá – PR, Brasil

^b Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 05508-000 São Paulo – SP, Brasil

*e-mail: jalmeida@dq.uem.br

Como mostra o exemplo, o autor para correspondência deverá ser indicado com asterisco (*) e seu e-mail colocado logo abaixo dos endereços. A menor unidade do endereço deve ser o departamento. Em seguida a faculdade/instituto e, por fim, a universidade. Laboratórios, programas de pós-graduação e cursos não devem ser inclusos no endereço. A segunda página deverá conter o título e o resumo do trabalho, ambos em inglês, com no máximo 150 (cento e cinquenta) palavras, e a indicação de 5 palavras-chave (keywords),

também em inglês. O texto deve se iniciar a partir da terceira página do manuscrito.

Ao longo do texto, o autor deve se atentar às seguintes regras:

- Palavras em língua estrangeira (inglês, francês, latim, etc.) deverão ser escritas em itálico. Nomes científicos de espécies devem ser escritos em itálico, com a primeira letra do nome em caixa alta.

Alguns exemplos:

... os experimentos foram realizados *in situ*;

A bactéria *Escherichia coli* ...;

O tratamento dos dados foi realizado a partir do *software* Origin;

- Todas as unidades devem ser separadas dos valores por um espaço simples (inclusive o grau Celsius). A mesma regra é válida para o caso de unidades em sequência.

Alguns exemplos:

10 °C;

15 mg L⁻¹ (evitar mg/L);

10 m s⁻² (evitar m/s²);

- As citações de referências devem ser feitas de forma consecutiva, na forma numérica sobrescrita (sem parênteses ou colchetes), sempre após a pontuação, quando houver. Citações de duas ou mais referências devem ser separadas por vírgulas. Citações de três ou mais referências consecutivas devem ser agrupadas, utilizando-se o hífen (-).

Alguns exemplos:

Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura.^{3,7,8}

Existe extensa literatura a respeito do sistema utilizado,⁹⁻¹² bem como das propriedades dos materiais empregados.¹³

Atenção: Toda a nomenclatura utilizada deverá ser consistente, clara e de acordo com as regras estabelecidas por entidades apropriadas, como IUPAC, *International Union of Biochemistry, Abstracts Service, Nomenclature Committee of the American Chemical Society*, entre outras. Símbolos e unidades deverão seguir as recomendações da IUPAC. Os autores devem evitar o uso de unidades que não fazem parte do SI.

Normas para elementos gráficos e tabelas

Gráficos e Figuras: textos, nomes dos eixos e quaisquer outros elementos textuais que acompanham os elementos gráficos devem ser consistentes ao longo de todo o trabalho em relação à fonte, ao tamanho da fonte, ao espaçamento e à cor. Para elementos gerados por computador, deve-se evitar planos de fundo ou sombreamento.

Fórmulas estruturais e equações químicas: todas as estruturas químicas ou equações devem ser escritas utilizando a mesma fonte ao longo do manuscrito.

Equações: as equações devem ser escritas utilizando-se um editor de equações (MathType, Equation, entre outros) e devem ser numeradas sequencialmente ao longo do manuscrito.

Fotografias: as fotografias devem apresentar contraste e não devem ser montagens. Caso haja necessidade de uma escala, ela deve ser desenhada sobre a figura e não abaixo. Não serão aceitas fotografias de equipamentos comerciais.

Tabelas: as tabelas devem ser formatadas de modo a fornecer informações diretas ao leitor. Sombreamentos e negritos devem ser evitados. Qualquer informação extra deve vir abaixo da tabela, na forma de nota de rodapé, utilizando-se as letras a, b, c e assim por diante.

Graphical abstract (em inglês): O graphical abstract deve resumir o conteúdo do trabalho de forma concisa e dedicada a capturar a atenção de um público amplo. O autor deve apresentar uma figura nova, usando como parâmetro uma estrutura chave, uma reação, uma equação, um conceito, um gráfico, um teorema, entre outras possibilidades. Recomenda-se que seja de caráter artístico e possua

cores diversas. Não serão aceitas fotos de equipamentos comerciais.

Atenção: a imagem deve possuir alta resolução (em formato .tiff, .jpg ou qualquer outro de ampla utilização que possa ser editado) e tamanho de 4 cm de altura por 8 cm de largura [**os elementos textuais devem ser legíveis nessas dimensões**]. Junto com o graphical abstract, o autor deverá enviar um texto explicativo em inglês (em arquivo .txt, .rtf ou .doc) de, no máximo, 3 linhas.

Normas para citações e lista de referências

Os elementos gráficos e as tabelas devem ser numeradas e citadas no texto, utilizando-se a primeira letra em caixa alta. Não se deve abreviar as citações.

Alguns exemplos:

... como pode ser verificado na Tabela 1.

A Figura 3 mostra o sistema utilizado...

(Tab. 1, Fig. 1 e quaisquer outras abreviações dos títulos dos elementos não devem ser utilizadas)

As referências devem ser citadas na forma de números sobrescritos após a pontuação, quando houver. Parênteses e colchetes não devem ser utilizados. Não utilizar espaços entre as citações ou entre a citação e o caractere sobre o qual está posicionada.

Alguns exemplos:

salicilato de sódio,¹⁻³

Nishide *et al.*,⁴

... pela redução do ácido crômico,^{4-8,12}

(Três ou mais referências consecutivas devem ser citadas utilizando-se o hífen)

Na seção Referências, as abreviações dos títulos de periódicos devem estar de acordo com as definidas no Chemical Abstracts Service Source Index (ver <http://cassi.cas.org>).

As normas para o ano, o volume e as páginas seguem abaixo para diversos tipos de literaturas. A pontuação, os espaçamentos, os negritos e os itálicos devem ser verificados com atenção. Manuscritos com referências fora das normas da revista serão reenviados ao autor até que os erros sejam verificados e corrigidos.

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, *67*, 518.

2. No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o seu número de Chemical Abstract, como segue:

Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zadev.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, *19*, 708. (CA 85:78051s).

3. Caso o trabalho tenha doi, mas não a referência completa, citar *doida* seguinte maneira:

Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; *Electrochimica Acta* (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

É recomendado o uso de referências compostas na medida do possível, em lugar de uma lista de referências individuais. O estilo das referências compostas é o seguinte:

4. Varela, H.; Torresi, R. M.; *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 665; Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1996**, *7*, 123; Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 473.

Patentes:

Devem ser identificadas da seguinte forma (na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado entre parênteses).

5. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho 79 73,771* **1979**.(CA 91:P193174v)

6. Kadin, S.B.; *US pat. 4,730,004* **1988**. (CA 110:P23729y)

7. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T.; *Br PI 9.604.468-3*,**1999**.

Livros:com editor(es):

8. Regitz, M. Em *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

sem editor(es):

9. Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., Wiley: New York, 1988.

Programas de computação (Softwares):

10. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*; Universidade de Göttingen, Alemanha, 1993.

Teses:

11. Velandia, J. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

Material apresentado em Congressos:

12. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; *Resumos da 20a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 1998.

Páginas Internet:

<http://www.s bq.org.br/jbcs>, acessada em Junho 2001.

Material não publicado:

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo. Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Os resultados não publicados só poderão ser citados com a permissão explícita das

pessoas envolvidas na sua obtenção.

Manuscritos contendo RMN, IV, espectros de massas, etc.

Sempre que um composto é sintetizado ou identificado (novo ou conhecido previamente), é obrigatório o envio de todos os dados espectrais (dados e espectros) como Material Suplementar (ver seção Material Suplementar) no momento da submissão do manuscrito, ao final do arquivo .pdf.

Material Suplementar

Esta modalidade foi criada para que na versão impressa da revista apareça o número estritamente necessário de Figuras e Tabelas. Ressalta-se que, como este material ficará disponível apenas na versão on line, figuras, tabelas e ilustrações coloridas apresentadas na forma de material suplementar não terão custo repassado aos autores, nem limite de páginas. Porém, devem ter boa qualidade gráfica.

O Material Suplementar (MS) deverá ser colocado no final do trabalho, com indicação clara. Deverá ser submetido um único documento .pdf, incluindo o material suplementar. Quando houver MS, deve ser criada uma seção MATERIAL SUPLEMENTAR, logo após a seção CONCLUSÃO, com a descrição de seu conteúdo. O texto deve também indicar o acesso livre ao MS a partir do website da revista Química Nova (<http://quimicanova.sbq.org.br/>).

Elementos gráficos e Tabelas do Material Suplementar devem ser numeradas sequencialmente, com a letra S após a numeração. Ex: Figura 1S, Tabela 4S, etc.

Apesar de complementar a informação do manuscrito, o MS deve ser um documento completo. Caso sejam usadas referências, elas devem ser listadas ao final do próprio MS. Assim como as Figuras e Tabelas, devem ser numeradas na forma 1S, 2S, ...

Os Editores poderão solicitar aos autores, em qualquer fase da tramitação, a separação de Material Suplementar.

DURANTE A SUBMISSÃO

A QN oferece aos autores a submissão on line, que pode ser acessada através do registro de Login e Senha. É possível registrar-se em nossa home page (<http://quimicanova.sbq.org.br>) usando a opção Novo Usuário. Após estar cadastrado no sistema, o autor pode facilmente seguir as instruções fornecidas na tela. Será solicitada a submissão de um único arquivo do manuscrito completo, em formato .pdf. Está disponível uma ferramenta para gerar o arquivo .pdf, a partir de arquivo .doc ou .rtf, com envio automático para o e-mail do autor. Tão logo seja completada a submissão, o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que este seja verificado pela editoria. Então será

enviado e-mail com o número de referência do trabalho.

Se não for recebido o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão.

O autor poderá acompanhar, diretamente a partir do sistema, a situação de seu manuscrito.

Ao fazer a submissão, solicita-se uma carta de apresentação, que deverá ser digitada no local indicado, sendo obrigatória a apresentação dos e-mails de todos os autores. Além disso, devem ser enviados também os nomes, instituições a que pertencem e e-mails de três ou quatro possíveis assessores, que não podem pertencer à(s) mesma(s) instituição(ões) dos autores.

Para as versões de avaliação

Deve ser gerado um arquivo único, em formato PDF, preparado de acordo com as normas descritas anteriormente. O sistema online de submissão da Química Nova não aceitará outro formato de arquivo para as versões de avaliação.

Manuscritos Revisados: Manuscritos enviados aos autores para revisão deverão retornar à Editoria dentro de prazo máximo de trinta dias ou serão considerados retirados, sendo que o sistema encerra o processo, não permitindo que seja reaberto. Vencido o prazo, deverá ser feita nova submissão, dando início a um novo processo.

A submissão do manuscrito revisado deverá ser feita pelo mesmo autor, usando o Login e a Senha registrados anteriormente. O autor deve seguir as instruções fornecidas na tela, para envio do documento .pdf completo da versão revisada. Deve ser redigida uma carta de encaminhamento, em pdf, aos assessores, detalhando as alterações feitas na nova versão e justificando as alterações sugeridas nos pareceres e que não foram aceitas pelos autores. Esses dois arquivos devem ser enviados por meio da seção Envio de Nova Versão, na Página do Autor, no sistema de submissão online da revista.

Tão logo seja completada a submissão o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que ele seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail contendo o número de referência do trabalho.

Para a versão final

Quando for solicitado o envio da versão final, os autores deverão enviar a versão redigida em arquivo .doc/.docx, de acordo com as normas descritas anteriormente. Os elementos gráficos e as tabelas devem ser enviados separadamente, em seus formatos originais:

Estruturas químicas: *.cdx (ChemDraw, ISIS-Draw e correlatos)

Gráficos: *.opj/org (Origin) ou *xls/xlsx (Excel)

Tabelas: *.doc (Word) ou *xls/xlsx (Excel)

Outros elementos (Figuras, esquemas, etc.): *.cdr (CorelDraw)

A Editoria de QN reserva-se o direito de efetuar, quando necessário, pequenas alterações nos manuscritos, de modo a adequá-los às normas da revista ou tornar seu estilo mais claro, respeitando, naturalmente, o conteúdo do trabalho. Qualquer que seja a natureza do manuscrito submetido, ele deve ser original em nível de metodologia, informação, interpretação ou crítica. A qualificação do trabalho poderá ser atestada por consultor(es) *ad hoc*, indicados pela Editoria.

A Editoria de QN reserva-se o direito de efetuar, quando necessário, pequenas alterações nos manuscritos, de modo a adequá-los às normas da revista ou tornar seu estilo mais claro, respeitando, naturalmente, o conteúdo do trabalho. Qualquer que seja a natureza do manuscrito submetido, ele deve ser original em nível de metodologia, informação, interpretação ou crítica. A qualificação do trabalho será atestada por dois consultores, indicados pela Editoria.

Copyright ©2012 Sociedade Brasileira de Química

Para publicação, requer-se que os manuscritos submetidos a esta revista não tenham sido publicados anteriormente e não sejam submetidos ou publicados simultaneamente em outro periódico. Ao submeter o manuscrito, os autores concordam que o copyright de seu artigo seja transferido à Sociedade Brasileira de Química (SBQ), se e quando o artigo for aceito para publicação. O copyright abrange direitos exclusivos de reprodução e distribuição dos artigos, inclusive separatas, reproduções fotográficas, microfilmes ou quaisquer outras reproduções de natureza similar, inclusive traduções. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, armazenada em bancos de dados ou transmitida sob qualquer forma ou meio, seja eletrônico, eletrostático, mecânico, por fotocópia, gravação, mídia magnética ou algum outro modo, sem permissão por escrito da detentora do copyright. Embora todo esforço seja feito pela SBQ, Editores e Conselho Editorial para garantir que nenhum dado, opinião ou afirmativa errada ou enganosa apareçam nesta revista, deixa-se claro que o conteúdo dos artigos e propagandas aqui publicados são de responsabilidade, única e exclusiva, dos respectivos autores e anunciantes envolvidos. Conseqüentemente, a SBQ, o Conselho Editorial, os Editores e respectivos funcionários, diretores e agentes isentam-se, totalmente, de qualquer responsabilidade pelas conseqüências de quaisquer tais dados, opiniões ou afirmativas erradas ou enganosas.