

Apresentação da potenciometria como método de determinação da capacidade coordenante de óleos essenciais com o íon ferro (II).

I - estudos com óleos essenciais de *Mentha*

Reinaldo Simões Gonçalves¹, Alice Battistin²

Resumo - O presente trabalho apresenta a potenciometria como técnica analítica para a avaliação da capacidade coordenante de óleos essenciais sobre um prooxidante: o íon ferroso. Nestes experimentos foram testados os óleos essenciais de *Mentha spicata* L., *Mentha x gentilis* L., *Mentha crispa* L., *Mentha piperita* L. e *Mentha x piperita* L. A técnica consistiu no acompanhamento do deslocamento do potencial de circuito aberto de um eletrodo de platina, sensível ao par Fe^{2+}/Fe^{3+} no instante da adição do óleo essencial. O rápido aumento do potencial observado no instante da adição confirma o efeito coordenante do óleo. Este aumento é previsto pela equação de Nernst em função da retirada da espécie Fe (II) do equilíbrio Fe^{2+}/Fe^{3+} . A cinética do processo mostrou ser de primeira ordem em relação ao íon Fe(II). Cada óleo apresentou um valor de constante de velocidade de reação, sendo o mais alto valor observado para a *Mentha x gentilis*.

Palavras-chave: Metodologia eletroquímica, Complexação, Prooxidante.

Potentiometry as electrochemical method for determination of chelating ability of essential oils for reduced iron. I – studies with *Mentha* essential oils.

Abstract - This paper presents potentiometry as an analytical technique for Iron (II) chelating ability of essential oils. In these experiments five essential *Mentha* oils were tested: *Mentha spicata* L., *Mentha x gentilis* L., *Mentha crispa* L., *Mentha piperita* L. and *Mentha x piperita* L. The strategy of this method consist to follow the open-circuit potential shift involving the Fe^{2+}/Fe^{3+} equilibrium on the platinum electrode surface, after one drop of essential oil addition. The open-circuit potential shifts promptly to more positive potential values suggesting a strong chelating ability of the essential oils. This effect is predictable by Nernst equation by withdrawing of the Fe(II) species from the Fe^{2+}/Fe^{3+} equilibrium. It was demonstrated that the chelating reaction is first order regarding to Fe(II) species. Each essential oil has a different reaction velocity constant, however it was noticeable the constant value of *Mentha x gentilis*.

Key words: Electrochemical methodology, Chelating ability, Pro-oxidant effect.

Introdução

O Gênero *Mentha*, (vulgarmente chamado hortelã, menta ou hortelã pimenta), pertence à família Lamiaceae. Relatos citam as hortelãs como originárias da Europa e Ásia, tendo sido introduzidas no Brasil já na época do descobrimento (ERVAS e SAÚDE, 2005). Existem referências do uso de hortelã no piso de sinagogas e igrejas italianas; as mulheres romanas mascavam hortelã para mascarar o hálito de vinho; segundo a mitologia grega, *Mentha* era a ninfa de um deus grego, transformada em hortelã pela maldição da esposa enciumada. Em 1998 esta espécie foi eleita a “erva do ano” pela International Herb Association (HORTA EM CASA, 2005).

São aproximadamente 25 espécies com grande facilidade de hibridização entre elas. No Rio Grande do Sul, são cultivados diversos híbridos do gênero *Mentha*, sendo

difícil sua identificação, pelo fato de apresentarem características muito semelhantes. Nos estados de São Paulo e do Paraná, é cultivado a *Mentha arvensis* ou menta japonesa, da qual é extraído o mentol cristalizado que se encontra na concentração de 63 a 85% no óleo essencial, obtido por destilação (WESTPHALEN, 1976).

Entre as mentas cultivadas no Brasil uma das espécies que apresenta maior valor comercial é a *M. piperita*. Provavelmente, é originária da Inglaterra, híbrida de *M. viridis* e *M. aquática* (STASI e HIRUMA-LIMA, 2002). Na Itália e no sul do Brasil cresce a *M. piperita* var. *officinalis*. A planta acumula o máximo teor de óleo essencial, que é denominado mentol, quando ocorre o florescimento. É uma erva bastante utilizada como tempero culinário, devido ao sabor picante e aromatizante. Como medicamento é utilizada em forma de chás com inúmeras indicações, como antiespasmódica, anti-séptica, antiviral, an-

¹ Professor-Pesquisador, Dr. em Química – Físico-Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500 Caixa Postal 15049. CEP 91501-970 Porto Alegre/RS. E-mail: reinaldo@iq.ufrgs.br

² Bióloga, Drª. em Agronomia-Genética e Melhoramento de Plantas. Pesquisadora Voluntária. Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária. Rua Gonçalves Dias, 570, B. Menino Deus. CEP 90130-060 Porto Alegre/RS. E-mail: alice-battistin@fepagro.rs.gov.br

tiinflamatória, antiúlcera, calmante, expectorante, analgésico, estimulante do sistema nervoso central (SIMÕES et al, 1998). Na indústria alimentícia é empregada na fabricação de balas, doces e licores, sendo também utilizada na indústria de cosméticos, principalmente em dentifrícios e cremes de barbear (ERVAS e SAÚDE, 2005).

O último levantamento sobre dados farmacológicos de algumas espécies de *Mentha*, além das propriedades citadas foi encontrado no óleo da *M. piperita*, a propriedade larvicida e inseticida (ANSARI et al., 2000) e na *M. cordifolia* foi detectado atividade antimutagênica (VILLASENOR et al., 2002). Na *M. arvensis*, foram detectadas propriedades: fungicida, antibacteriana, antifertilizante (SHARMA e JACOB, 2002). Na *Mentha viridis*, conhecida vulgarmente como hortelã-levante, hortelã-grande, etc., o xarope das folhas é utilizado para asma, bronquite e gripe (STASI e HIRUMA-LIMA, 2002). A habilidade de coordenação de alguns óleos essenciais sobre o íon Fe(II) também é considerado um parâmetro importante nas propriedades medicinais dos mesmos. Os íons metálicos reduzidos como o íon Fe(II) aceleram os processos peroxidativos sobre o organismo (YAMAUCHI et al., 1988). No entanto, o método utilizado nesta determinação baseia-se na espectrofotometria na presença de ferrozina como iniciador (DORMAN et al., 2003).

O presente trabalho apresenta a potenciometria como técnica eletroquímica para a determinação da capacidade coordenante dos óleos essenciais de *Mentha* sobre o íon Fe (II). Foram determinadas as habilidades coordenantes sobre o íon Fe(II) dos óleos extraídos de *Mentha spicata* L., *Mentha x gentilis* L., *Mentha crispera* L., *Mentha piperita* L. e *Mentha x piperita* L.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido na Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária-Sede, utilizando os equipamentos do Laboratório de Substrato para Plantas e material proveniente do Laboratório de Físico-química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

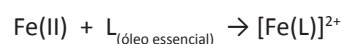
As cinco espécies de *Mentha* estudadas foram cultivadas no Rio Grande do Sul de acordo com os dados registrados na Tabela 1.

A estratégia desta determinação baseou-se na aplicação da equação de Nernst, utilizando um eletrodo de terceira espécie, imerso em uma solução alcoólica contendo sulfato ferroso. O valor do potencial de equilíbrio depende da relação entre as concentrações dos íons Fe(II)/Fe(III) sobre a superfície do eletrodo de platina, de acordo com a equação:

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{F} \ln\left(\frac{a_{Fe(III)}}{a_{Fe(II)}}\right)$$

onde E é o potencial de circuito aberto medido no tempo t e E° é o potencial de circuito aberto para as atividades (a) unitárias das espécies.

A habilidade coordenante dos óleos essenciais foi avaliada a partir do deslocamento do potencial de equilíbrio determinado pela equação acima, quando da adição dos óleos de *Mentha*. O potencial de circuito aberto se desloca para valores mais positivos devido à reação:



onde L representa o composto coordenante presente no óleo de *Mentha*.

Admitindo que esta seja uma reação de primeira ordem em relação à concentração de Fe(II), pode-se utilizar uma estratégia gráfica envolvendo uma relação linear entre as variáveis para se determinar a constante de velocidade da reação (ATKINS e DE PAULA, 2002):

$$\ln\left(\frac{[Fe(II)]}{[Fe(II)]_0}\right) \text{ vs tempo,}$$

onde [Fe(II)] é a concentração de Fe(II) no instante t, e [Fe(II)]₀ é a concentração de Fe(II) inicial.

Estes dados permitiriam inclusive, a obtenção de um dado importante o cálculo da constante de velocidade da reação de coordenação, cujo valor refletiria a capacidade coordenante de cada óleo essencial.

A relação entre os dados experimentais de potenciais medidos e as concentrações de Fe(II) pode ser determinada a partir da equação de Nernst para dois tempos da reação:

Tabela 1 - Espécies, registro no herbário, áreas de cultivo e data de coleta das cinco espécies de *Mentha* L.

Espécie	Reg. Herbário	Área de Cultivo	Data de coleta
<i>Mentha spicata</i> L.	HUCS-26629	Caxias do Sul/FEPAGRO/ RS/BR	14/02/2006
<i>Mentha x gentilis</i> L.	HUCS-26627	Caxias do Sul/UCS/IB/RS/BR	16/03/2005
<i>Mentha crispera</i> L.	BLA - 17254	Eldorado do Sul/FEPAGRO/RS/BR	26/01/2006
<i>Mentha piperita</i> L.	BLA - 17255	Eldorado do Sul/FEPAGRO/RS/BR	26/01/2006
<i>Mentha x piperita</i> L.	HUCS-27666	Caxias do Sul/FEPAGRO/ RS/BR	14/02/2006

HUCS – Herbário Universidade Caxias do Sul. BLA – Brazilian Laboratory of Agrostology.

FEPAGRO – Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária

UCS – Universidade de Caxias do Sul

IB – Instituto de Biologia

$$t = 0; \quad E' = E^{\circ'} + \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{[Fe(III)]}{[Fe(II)]_o} \right) \quad e$$

$$t \neq 0; \quad E = E^{\circ'} + \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{[Fe(III)]}{[Fe(II)]} \right)$$

A diferença entre os valores de potenciais seria:

$$E' - E = k \ln \left(\frac{[Fe(II)]}{[Fe(II)]_o} \right); \quad k = \text{constante}$$

ou

$$\Delta E = k \ln \left(\frac{[Fe(II)]}{[Fe(II)]_o} \right) \quad \text{para } t \neq 0; \quad \text{pois } E^{\circ'} \text{ e } [Fe(III)]$$

são os mesmos para as duas equações.

O potencial de circuito aberto do eletrodo de platina é medido contra um eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl_{sat}). Utilizou-se uma célula eletroquímica de vidro contendo 30 mL de uma solução água:etanol (1:1, v/v) contendo $FeSO_4$ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e ácido sulfúrico $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ dissolvido. A solução foi mantida sob agitação constante e o potencial de circuito aberto foi lido diretamente em um multímetro digital de bancada da MINIPA modelo ET 1001. A temperatura dos experimentos foi mantida constante em $(20 \pm 1)^\circ C$. Após a estabilização do potencial do eletrodo, uma gota previamente pesada do extrato de *Mentha* era adicionada. A massa média da gota do extrato de *Mentha* era de $(5,0 \pm 0,1) \times 10^{-4} \text{ g}$. A variação do potencial foi acompanhada por leituras diretas no multímetro. Todos os experimentos foram feitos em triplicata visando à reprodutibilidade dos mesmos.

Resultados e Discussão

A figura 1 apresenta a curva potencial vs. tempo para o efeito da adição de uma gota do extrato de óleo essencial da *Mentha x gentilis*, sobre o potencial de circuito aberto do eletrodo de platina mergulhado em 30 mL de solução etanólica contendo sulfato ferroso em meio ácido.

Pela figura observam-se dois processos ocorrendo na solução que se reflete no potencial lido. Antes da adição do óleo essencial o decaimento do potencial de circuito aberto do eletrodo de platina reflete o aumento da concentração do íon $Fe(III)$ na solução. Este se deve à reação de oxidação do $Fe(II)$ pelo oxigênio dissolvido na solução. No instante da adição do extrato de *Mentha x gentilis*, a tendência da variação de potencial muda completamente.

Os valores de potencial passam a aumentar, indicando um processo inverso, ou seja, existe uma di-

minuição da quantidade de íon $Fe(II)$ pela reação de complexação, sem o correspondente aumento da concentração do íon $Fe(III)$. O valor do potencial final de equilíbrio mostra uma variação de quase 100 mV em relação ao lido no instante da adição. Considerando a massa de uma gota do extrato de *Mentha x gentilis* adicionada nos 30 mL da solução etanólica e, do intervalo de tempo que o sistema levou para atingir o patamar de equilíbrio, trata-se de uma interação coordenante muito forte do ligante presente no extrato com o íon $Fe(II)$ presente na solução.

Uma análise química do óleo essencial de *Mentha x gentilis* mostrou a presença dos seguintes compostos, apresentados na forma percentual (m/m): Mirreno 1,24; Limoneno 0,70; 1,8-cineol 0,39; Cis-ocimeno 1,14; Trans-ocimeno 0,62; Linalol 31,19; Acetato de linalila 45,59; Beta-cariofileno 1,75; l-mentol 0,60; Alfa-terpineol 4,21; Acetato de nerila 2,15; Nerol 0,74; Gamma-gurjuneno 1,82. Pelos componentes majoritários, pode-se assumir que o efeito coordenante esteja sendo feito ou pelo acetato de linalila ou pelo linalol. Estes dados foram obtidos por análise cromatográfica gasosa realizada com um cromatógrafo Hewlett Packard modelo 6890 e uma análise cromatográfica acoplada a um espectrômetro de massa também Hewlett Packard 6890/MSD5973 com um programa HP Chemstation e uma base de dados da Wiley 275.

O mesmo efeito interativo foi observado quando se repetiu o procedimento com o extrato de *Mentha piperita*, conforme se observa na figura 2.

Rigorosamente os mesmos comentários apresentados na discussão da figura anterior se aplicam neste experimento com a *Mentha piperita*. No entanto, uma análise química deste óleo mostrou a seguinte composição:

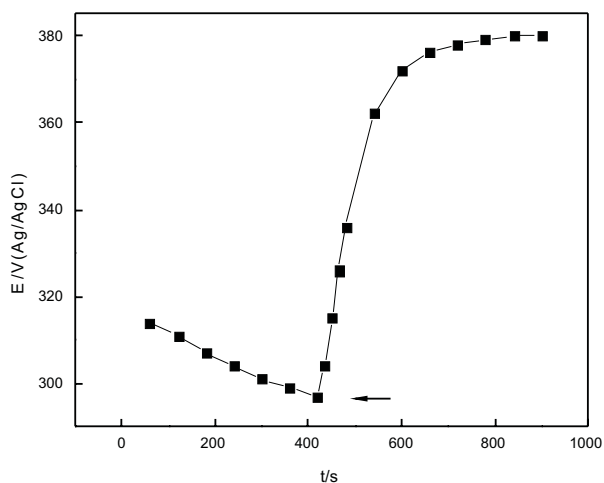


Figura 1 - Curva potencial vs. tempo para o eletrodo de platina em água:etanol (1:1; v/v) contendo $FeSO_4$ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,25 \text{ mol L}^{-1}$, antes e após a adição (indicado na figura) de uma gota do extrato de *Mentha x gentilis*.

Alfa-pineno 0,79; Beta-pineno 1,18; Sabineno 0,75; Mir-ceno 0,68; Limoneno 3,18; 1,8-cineol 6,97; Cis-ocimeno 0,25; Gama-terpineno 0,44; 1-mentona 18,02; Mentofurano 2,59; Acetato de mentilo 4,22; Beta-cariofileno 0,77; Neoisomentol 6,12; l-mentol 32,43; Germacreno-D 0,53; Carvona 10,66. Seguindo a mesma estratégia de atribuir a capacidade coordenante ao componente majoritário, neste caso, o l-mentol é o composto químico responsável por este efeito.

Os outros óleos essenciais testados também apresentaram comportamento semelhante, ou seja, houve um deslocamento do potencial de circuito aberto para potenciais mais positivos. No entanto, o valor do deslocamento final e a cinética do processo mostraram que cada óleo essencial apresenta uma interação característica. A determinação da constante de velocidade da reação de coordenação possibilitou uma melhor diferenciação entre os óleos essenciais. A figura 3 apresenta a variação do deslocamento de potencial de equilíbrio do eletrodo de platina (ΔE) em função do tempo, logo após a adição do óleo de *Mentha x gentilis*, durante o intervalo de tempo correspondente ao início da reação de coordenação entre o íon Fe (II) e o novo potencial de equilíbrio.

A linearidade dos dados da figura 3 confirma que se trata de uma reação de primeira ordem em relação ao íon Fe (II). O valor da inclinação da reta corresponde a constante de velocidade da reação ($k = 1.03 \pm 0.02 \text{ s}^{-1}$), entre o íon Fe (II) e o óleo essencial de *Mentha x gentilis*.

O mesmo comportamento foi observado para o óleo essencial extraído da *Mentha piperita*, como se observa na figura 4.

Tanto neste experimento como naqueles envolvendo os outros óleos essenciais, o comportamento foi o mesmo. Isto permitiu comparar as constantes de velocidades das reações de coordenação conforme mostra a tabela 2. As incertezas apresentadas foram calculadas a partir da média aritmética dos dados obtidos por três repetições.

Tabela 2 - Constantes de velocidade da reação de coordenação do íon Fe (II) com os óleos essenciais de cinco espécies de *Mentha*.

Espécies de <i>Mentha</i>	Constante de velocidade $k(\text{s}^{-1})$
<i>Mentha x gentilis</i> L.	1.030 ± 0.002
<i>Mentha piperita</i> L.	0.867 ± 0.003
<i>Mentha spicatta</i> L.	0.707 ± 0.001
<i>Mentha crispa</i> L.	0.593 ± 0.003
<i>Mentha x piperita</i> L.	0.453 ± 0.002

Pelos dados da tabela apresentada observa-se que existem diferenças significativas com relação à capacidade coordenante dos óleos essenciais. Esta diferença está associada à composição química diferenciada de cada óleo.

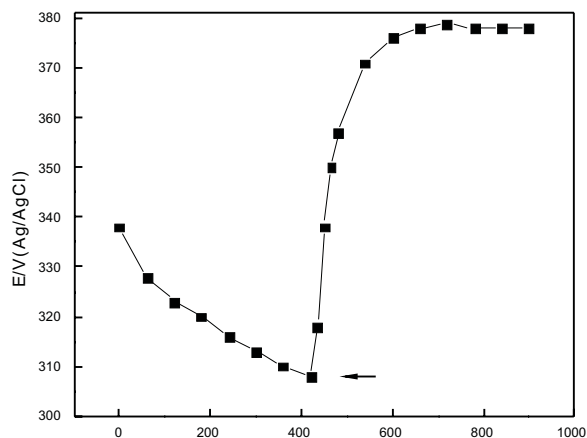


Figura 2 - Curva potencial vs. tempo para o eletrodo de platina em água:etanol (1:1; v/v) contendo FeSO_4 , $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 , $0,25 \text{ mol L}^{-1}$, antes e após a adição (indicado na figura) de uma gota do extrato de *Mentha piperita*.

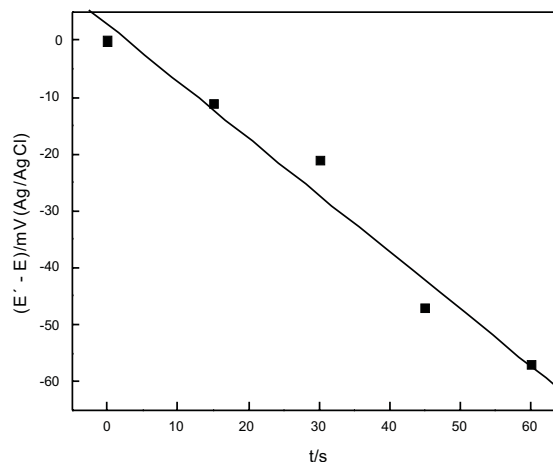


Figura 3 - Curva ΔE vs. tempo, para o deslocamento do potencial do eletrodo de platina quando da adição de uma gota do óleo de *Mentha x gentilis*.

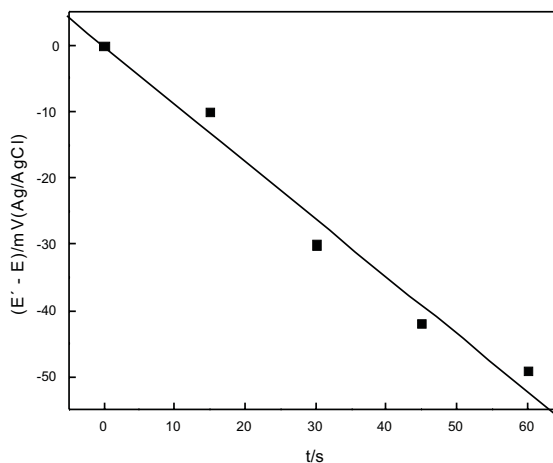


Figura 4 - Curva ΔE vs. tempo, para o deslocamento do potencial do eletrodo de platina quando da adição de uma gota do óleo de *Mentha piperita*.

Conclusões

Neste trabalho se apresenta uma nova metodologia para a determinação da capacidade de coordenação de óleos essenciais com o íon Fe(II) a partir de um procedimento simples baseado na equação de Nernst. A variação do potencial de circuito aberto envolvendo um eletrodo de terceira espécie (platina) evidenciou uma forte capacidade coordenante dos extratos de *Mentha*. A relação linear entre o valor da variação de potencial em função do tempo, confirmou tratar-se de uma reação de primeira ordem em relação ao íon Fe(II). As

constantes de velocidade de reação foram diferentes para cada óleo. Esta diferença foi atribuída à composição química diferenciada entre os mesmos. No entanto, é importante salientar que o óleo essencial da *M. x gentilis* L. apresentou o maior valor de constante de velocidade, sugerindo uma maior habilidade coordenante do íon Fe(II).

Agradecimentos

Os autores agradecem à FEPAGRO e à UFRGS, pela disponibilização dos equipamentos e do material.

Referências

- ANSARI, M. A.; VASUDEVAN, P.; TANDON, N.; RAVDAN, R. K. Larvicidal and Mosquito Repellent Action of Peppermint (*Mentha piperita*) oil. **Bioresource Technology**, Essex, v. 71, n.3, p 267-271, 2000.
- ATKINS, P.; DE PAULA, J. **Physical Chemistry**, 7. ed. Oxford: University Press, 2002, 1149 p.
- DORMAN, H. J. D.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. Antioxidant Properties and Composition of Aqueous Extracts from *Mentha* Species, Hybrids, Varieties, and Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v.51, n. 16, p. 4563-4569, 2003.
- ERVAS & SAÚDE. Disponível em: <www.ervaesaude.hpg.ig.com.br>. Acesso em: 7 nov. 2005.
- HORTA EM CASA. Disponível em: <www.hortaemcasa.com.br>. Acesso em: 7 nov. 2005.
- SHARMA, N.; JACOB, D. Assessment of Reversible Contraceptive Efficacy of Methanol Extract of *Mentha arvensis* L. Leaves in Male Albino Mice. **Journal of Ethnopharmacology**, New York, v. 80, p. 9-13, 2002.
- SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. 174 p.
- STASI, D. L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A.; GUIMARÃES, E.M.; SANTOS, C.M. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica: Lamiales Medicinais**. São Paulo: UNESP, 2002. 604 p
- VILLASENOR, I. M.; ECHEGOYEN, D.E. ; ANGELADA, J.S. A New Antimutagen from *Mentha cordifolia* Opiz. **Mutation Research**, London, v. 515, n. 1-2, p 141-146, 2002
- YAMAUCHI R.; TATSUMI Y.; ASANO M.; KATO K.; UENO Y. Effect of Metal Salts and Fructose on the Autoxidation of Methyl Linoleate in Emulsions. **Agricultural and Biology Chemistry**, v. 52, n. 3, p 849-850, 1988.
- WESTPHALEN, S.L. A *Mentha piperita*. **Revista de Agricultura e Pecuária Brasileira**, Porto Alegre, v. 1, n.10, p.32-33, 1976.