



**Embrapa**

*Amazônia Oriental*

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA  
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-PA - EMBRAPA  
DOUTORADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**TEREZINHA DE JESUS NERY RAMOS**

**COMPOSTOS FENOLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E EFEITO DA  
SAZONALIDADE NA COMPOSIÇÃO MINERAL EM FOLHAS DE *Cecropia obtusa*  
Trécul. E *Cecropia palmata* Will. (Cecropiaceae)**

**BELÉM  
2013**

**TEREZINHA DE JESUS NERY RAMOS**

**COMPOSTOS FENOLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E EFEITO DA  
SAZONALIDADE NA COMPOSIÇÃO MINERAL EM FOLHAS DE *Cecropia obtusa*  
Trécul. E *Cecropia palmata* Will. (Cecropiaceae)**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da  
Amazônia, como parte das exigências do Curso  
de Doutorado em Ciências Agrárias: área de  
concentração Agroecossistemas da Amazônia,  
para obtenção de título de Doutor.

**Orientador:** Prof. Dr. Osmar Alves Lameira

**BELÉM  
2013**



---

Ramos, Terezinha de Jesus Nery

Compostos fenólicos, atividade antioxidante e efeito da sazonalidade na composição mineral em folhas de *Cecropia obtusa* **Trécul. E. *Cecropia palmata* Will. (Cecropiaceae)** / Terezinha de Jesus Nery Ramos. - Belém, 2013.

73 f.

Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2013.

1. Cecropiaceae. 2. Fenois. 3. Flavonoides. 4. Atividade Antioxidante. 5. Minerais. I. Título.

---

**CDD – 583.45**

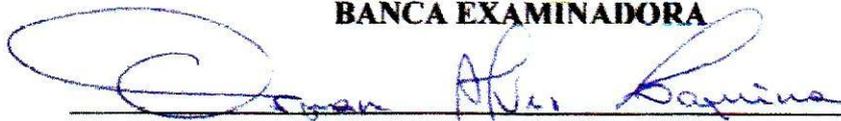
**TEREZINHA DE JESUS NERY RAMOS**

**COMPOSTOS FENOLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E EFEITOS DA  
SOZANALIDADE NA COMPOSIÇÃO MINERAL EM FOLHAS DE *Cecropia obtusa*  
Trécul. E *Cecropia palmata* Will. (Cecropiaceae)**

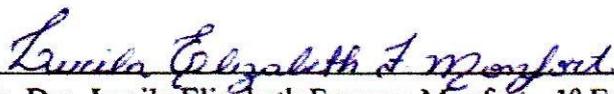
Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do  
Curso de Doutorado em Ciências Agrárias: área de concentração Agroecossistemas da  
Amazônia, para obtenção de título de Doutor.

Aprovada em dezembro de 2013

**BANCA EXAMINADORA**



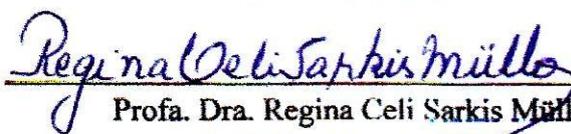
Prof. Dr. Osmar Alves Lameira - Orientador  
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL



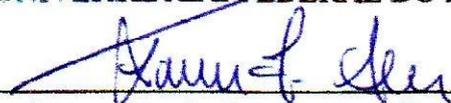
Profa. Dra. Lucila Elizabeth Fragoso Monfort - 1º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA



Profa. Dr. Louise Ferreira Rosal - 2º Examinador  
INSTITUTO FEDERAL DO PARÁ



Profa. Dra. Regina Celi Sarkis Müller - 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ



Dra. Laura Figueiredo Abreu - 4º Examinador  
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

Á Deus pela vida, saúde e força para superar obstáculos e  
conseguir atingir meus objetivos.  
Aos meus pais Antônio e Benedita *in memoriam* pela educação  
exemplos ao longo de minha vida.

**Dedico**

Ao meu esposo Joaquim, aos meus filhos Andréa, Fábio e Wagner pelo amor e apoio incondicional, aos netos Jéssica, Luis, Maria Luisa, Andressa e Larissa como incentivo ao conhecimento.

**Ofereço**

## AGRADECIMENTOS

À DEUS, por ter me dado forças e saúde para concluir este trabalho.

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) e à Coordenação do Curso de Doutorado em Ciências Agrárias pela oportunidade concedida a realização deste curso.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pela utilização do laboratório de Agroindústria.

A Universidade Federal do Pará (UFPA) pela utilização do laboratório de Química

Ao Instituto Evandro Chagas (IEC), pela utilização do laboratório de Toxicologia Dr. Edilson Brabo, Ananindeua-PA.

Ao Dr. Osmar Alves Lameira a orientação, sugestões e dedicação durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores do Curso de Doutorado pelos conhecimentos transmitidos.

A professora Dr. Regina Celi Sarkis Müller, pelas sugestões, e críticas na elaboração deste trabalho.

Ao pesquisador Kelson do Carmo Faial, pelas sugestões e orientação durante as análises no Laboratório de Toxicologia- Instituto Evandro Chagas.

As pesquisadoras Nádia Elígia Nunes Paracampo e Patrícia Homobono, pela amizade e orientação durante as análises no Laboratório de Agroindústria - Embrapa Amazônia Oriental, Belém PA.

Ao Dr. José Maria Gaia, pela colaboração na elaboração deste trabalho.

Aos laboratoristas e estagiários do Laboratório de Toxicologia- Instituto Evandro Chagas, pela colaboração na execução das análises laboratoriais.

A Fernanda Ribeiro bolsista PIBIC- Embrapa pela colaboração na execução deste trabalho.

Aos meus filhos genro e nora, por me compreenderem e reforçar a realização deste trabalho.

Ao meu esposo pelo carinho, amor, compreensão, paciência e pelas inúmeras ajudas.

A minha família especialmente aos meus irmãos e irmãs agradeço pelo incentivo à concretização desse trabalho.

Aos colegas do curso de Doutorado e as demais pessoas que tornaram possíveis a realização deste trabalho meus agradecimentos.

**A chama arde enquanto consome  
O oxigênio enquanto existe  
A chama apaga enquanto consome  
O que produz enquanto existe**  
*Joaquim Fileto*

## RESUMO

Visando contribuir para o conhecimento sobre as propriedades químicas, fitoquímicas e biológicas de *Cecropia palmata* e *Cecropia obtusa*, este trabalho teve como objetivo geral, avaliar o potencial antioxidante, os teores de minerais na matéria seca e chás, e a influência da sazonalidade na composição mineral em folhas de *Cecropia palmata* e *Cecropia obtusa*. **No Capítulo I** foram quantificados por espectrofotometria os teores de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu, flavonoides, e a atividade antioxidante pelo reagente DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) em extratos de folhas de *Cecropia palmata* e *Cecropia obtusa*. O teor de fenóis para *Cecropia obtusa* foi de  $429,94 \pm 23,04$  miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra, e para *Cecropia palmata*  $357,82 \pm 10,57$ . Os teores de flavonoides para *Cecropia obtusa* foi de  $62,652 \pm 1,13$  mg de equivalente de quercetina por grama de amostra, e para a *Cecropia palmata* foram de  $54,014 \pm 0,29$ . A quantidade de amostra necessária para descrever a concentração inicial de DPPH em 50% (CE<sub>50</sub>) para *Cecropia obtusa*, foi de CE<sub>50</sub> 179,941 µg/mL e para *Cecropia palmata* CE<sub>50</sub> 253,91 µg/mL. Os resultados mostram que as duas espécies apresentam atividade antioxidante, sendo que *Cecropia obtusa* apresenta maiores quantidades de fenóis totais, flavonoides e de atividade antioxidante, quando comparada a *Cecropia palmata*. **No Capítulo II** foram avaliados por espectrometria de absorção atômica, os teores dos minerais: cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, sódio, manganês e zinco, na matéria seca e chás de folhas de *Cecropia palmata* e *Cecropia obtusa*, em diferentes períodos sazonais. Os dados foram analisados através de métodos quimiométricos explanatórios. Os resultados mostram que a interação entre a época do ano e as espécies vegetais interfere na concentração da maioria dos minerais analisados, e que as duas espécies obtidas no período de maior precipitação pluviométrica, apresentam maior similaridade, em relação aos teores das variáveis cálcio, cobre e manganês. A concentração de minerais nos chás foi reduzida em relação a matéria seca, sugerindo que o uso de uma xícara de chá por dia, conforme metodologia utilizada, possa ser uma possível fonte de minerais sem risco de toxidez.

**Palavra-chaves:** Embaúba. Sazonalidade. Chás. Radicais Livres.

## ABSTRACT

To contribute to the knowledge about the chemical, photochemical and biological *Cecropia palmata* and *Cecropia obtusa*, this study aimed to evaluate the antioxidant potential, the mineral content in the dry matter and teas, and the influence of seasonality in the composition mineral sheets *Cecropia palmata* and *Cecropia obtusa*. **In Chapter I** were quantified by spectrophotometry the total phenolic content by Folin - Ciocalteu, flavonoids and antioxidant activity by DPPH reagent (2,2- diphenyl-1-picryl hidrazila) in extracts of leaves of *Cecropia palmata* and *Cecropia obtusa*. The result for *Cecropia obtusa* of total phenols was  $429,94 \pm 23,04$  mg of gallic acid equivalent per gram of sample , and *Cecropia palmata*  $357,82 \pm 10,57$  . The flavonoids for *Cecropia obtusa* was  $62,652 \pm 1,13$  mg quercetin equivalent per gram of sample, and the *Cecropia palmata* were  $54,014 \pm 0,29$  . The amount of sample needed to describe the initial concentration of DPPH in 50% ( $EC_{50}$ ) for *Cecropia obtusa* was 179.941  $EC_{50}$  g / ml  $EC_{50}$  and *Cecropia palmata* 253,91 mg / mL. The results show that these two species have antioxidant activity, and *Cecropia obtusa* has higher amounts of total phenols, flavonoids and antioxidant activity compared to *Cecropia palmata*. **In Chapter II** were evaluated by atomic absorption spectrometry, the levels of minerals: calcium, copper, iron, potassium, magnesium, sodium, manganese and zinc in the dry matter and leaf teas *Cecropia palmata* and *Cecropia obtusa* in different seasonal periods. Data were analyzed by chemometric methods explanatory. The results show that the interaction between season and plant species interferes with the concentration of most minerals analyzed, and that the two species obtained in the period of greatest rainfall, show greater similarity in relation to the contents of the variable calcium, copper and manganese. The concentration of minerals in the tea was reduced in relation to dry matter, suggesting that the use of a cup of tea per day, according to the methodology used, can be a possible source of minerals without risk of toxicity.

**Keywords:** Embauba. Seasonality. Teas. Free Radicals.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reação química gerada pelo método do sequestro do radical DPPH. (MILARDOVIC; IVEKOVIC; GRABARIC, 2006).....	26
Figura 2 - Estrutura geral e padrão de numeração dos flavonoides (BIRT; HENDRICH; WANG, 2001).....	28
Figura 3 - Curva analítica de ácido gálico.....	44
Figura 4 - Curva analítica de quercetina.....	45
Figura 5 - Curva analítica de DPPH.....	46
Figura 6 - Curva analítica da espécie <i>Cecropia obtusa</i> .....	47
Figura 7 - Curva analítica da espécie <i>Cecropia palmata</i> .....	47
Figura 8 - Percentagem de atividade antioxidante (%AA) de <i>Cecropia obtusa</i> versus concentração $\mu\text{g/mL}$ ).....	50
Figura 9 - Percentagem de atividade antioxidante (%AA) de <i>Cecropia palmata</i> versus concentração $\mu\text{g/mL}$ ).....	50
Figura 10 - Relação entre variáveis (minerais) e espécies de <i>Cecropia</i> obtidas em períodos de menor precipitação (seco) ( $\text{CO}_1$ , $\text{CP}_1$ ) e maior precipitação (chuvoso) ( $\text{CO}_2$ , $\text{CP}_2$ ).....	65
Figura 11 - Dendrograma de dados relativos às variáveis (minerais) de <i>Cecropia</i> obtidas em diferentes sazonalidade.....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASB	Ascorbato Dismutal
Ca	Cálcio
CAT	Catalase
CE <sub>50</sub>	Concentração Eficiente
CO <sub>1</sub>	<i>Cecropia obtusa</i> obtida no período de menor precipitação (menos chuvoso)
CO <sub>2</sub>	<i>Cecropia obtusa</i> obtida no período de maior precipitação (chuvoso)
CP <sub>1</sub>	<i>Cecropia palmata</i> obtida no período de menor precipitação (menos chuvoso)
CP <sub>2</sub>	<i>Cecropia palmata</i> obtida no período de maior precipitação (chuvoso)
Cu	Cobre
DNA	Ácido Dexorribonucleico
DPPH	2,2 - difenil- 1- picril - hidrazila
EAG	Equivalente de ácido gálico
EQ	Equivalente de quercetina
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
EMBRAPA	Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária
Fe	Ferro
FT	Fenois Totais
°GT	Unidade de medida de grau alcoólico Gay Lussac
GSH	Glutationa reduzida
HCA	Hierarquia de Grupamento
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HO <sup>•</sup>	Radical hidroxila
K	Potássio
LD	Limite de Detectação
Lmin <sup>-1</sup>	Litro por minuto

LQ	Limite de quantificação
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
MS	Matéria Seca
mgKg <sup>-1</sup>	Miligrama por kilograma
mg/dia	Miligrama por dia
mM	Milimol
Na	Sódio
NIST	National Institute of Standards & Technology
Nm	Nanômetro
O <sub>2</sub>	Oxigênio molecular
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Oxigênio singlete
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCA	Componentes Principais
PC1	Primeira Componente Principal
PC2	Componente Secundária
R <sup>2</sup>	Coefficiente de Correlação
RDA	Necessidades Diárias Recomendadas
rpm	Rotação por minuto
SOD	Superóxido Dismutase
UL	Necessidades Diárias Recomendadas
SUDAN	Superintendência de Desenvolvimento da Amazônia
UFRA	Universidade Federal Rural da Amazônia
UL	Unidade Máxima Toleravel

%AA      Percentagem de atividade antioxidante

µg/mL    Micrograma por mililitro

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>CONTEXTUALIZAÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>16</b>
1.1.1	Geral.....	16
1.1.2	Específico.....	16
<b>1.2</b>	<b>Referencial teórico.....</b>	<b>17</b>
1.2.1	Amazônia e sua biodiversidade.....	17
1.2.2	Importância das plantas medicinais.....	18
1.2.3	Cecropiaceae.....	20
1.2.4	Radicais Livres.....	22
1.2.5	Antioxidantes.....	25
1.2.6	Compostos Fenólicos.....	26
1.2.7	Minerais de importância biológica.....	29
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>31</b>
<b>2</b>	<b>CAPÍTULO I - FENOIS TOTAIS, FLAVONOIDES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, EM FOLHAS DE <i>Cecropia obtusa</i> Trécul E <i>Cecropia palmata</i> Will.....</b>	<b>38</b>
	<b>RESUMO.....</b>	<b>38</b>
	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>39</b>
<b>2.1</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>40</b>
<b>2.2</b>	<b>Material e métodos.....</b>	<b>41</b>
2.2.1	Coleta e identificação do material botânico.....	41
2.2.2	Reagentes e soluções.....	42
2.2.3	Determinação do peso seco total.....	42
2.2.4	Preparação dos extratos e amostras.....	42
2.2.5	Determinação de fenois totais.....	42
2.2.6	Determinação de flavonoides.....	43
2.2.7	Determinação da atividade antioxidante.....	44
<b>2.3</b>	<b>Resultados e discussão.....</b>	<b>47</b>
<b>2.4</b>	<b>Conclusão.....</b>	<b>50</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>51</b>
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO II – DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DA MATÉRIA SECA E CHÁS DE FOLHAS DE <i>Cecropia palmata</i> Will. E</b>	

<i>Cecropia obtusa</i> Trécul. (Cecropiaceae) EM DIFERENTES SAZONALIDADE.....	54
<b>RESUMO</b> .....	54
<b>ABSTRACT</b> .....	55
<b>3.1 Introdução</b> .....	56
<b>3.2 Material e métodos</b> .....	58
3.2.1 Coleta e identificação do material botânico.....	58
3.2.2 Determinação do peso seco total.....	58
3.2.3 Preparação de infusões (chás) .....	58
3.2.4 Digestão da amostra seca.....	59
3.2.5 Instrumentos e Acessórios.....	59
3.2.6 Reagentes, soluções e material de referência.....	60
3.2.7 Análise estatística dos dados.....	60
<b>3.3 Resultados e discussão</b> .....	61
<b>3.4 Conclusão</b> .....	68
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	69

## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO

O número estimado de espécies vegetais em nível global é de 250.000 e o Brasil detém em torno de 45.000 espécies, equivalendo a 18% do total mundial. Desse, apenas pouco mais de 1.000 foram exaustivamente estudadas em suas propriedades medicinais. Embora mais de 2.000 espécies úteis da flora Amazônica já tenham sido identificadas por pesquisadores, menos 8% destas têm sido utilizadas intensivamente.

A Amazônia abriga uma grande diversidade de espécies de plantas detentoras de propriedades medicinais comprovadas e outras tantas muitas das quais são desconhecidos seus efeitos terapêuticos, e princípios ativos, mas que têm dado grande contribuição ao longo de diversas décadas por meio do resgate do conhecimento popular.

Entre toda riqueza da biodiversidade da Amazônia encontra-se as *Cecropia obtusa* e *Cecropia palmata*, espécies pertencentes à família Cecropiaceae, conhecidas popularmente como embaúba branca e embaúba vermelha respectivamente. O uso popular de plantas do gênero *Cecropia* é muito comum em tribos indígenas de países como o Brasil, Guiana, Colômbia, Guatemala, México e Cuba. Essas tribos utilizam *Cecropia* (embaúba) em forma de chás das folhas, assim como de outras partes da planta, no tratamento de várias doenças como asma brônquica, tosse, malária.

Estudos sobre radicais livres de oxigênio formados durante as oxidações biológicas evidenciam o papel chave desses radicais como responsáveis por uma série de condições patológicas degenerativas, associadas ao envelhecimento como o câncer, doenças cardiovasculares e diabetes. Extratos de plantas podem exercer ação antioxidante, sendo indicados para atenuar ou prevenir os efeitos deletérios provocados pelos radicais livres no organismo. A atividade antioxidante de muitas plantas está relacionada ao seu conteúdo de compostos fenólicos, entre eles os flavonoides.

Para o uso de plantas medicinais se busca quantidade e qualidade, com reprodutibilidade química, assim, fatores ambientais e a variabilidade química natural da espécie, devem sempre ser levados em consideração, visto que esses fatores podem levar a variações no conteúdo de metabólitos secundários. A época em que a planta é coletada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e a natureza dos constituintes ativos em plantas não são constante durante o ano. São relatadas variações sazonais em relação a várias classes de metabólitos secundários em diversas plantas medicinais, no entanto, para o

gênero *Cecropia* não foi encontrado ao que se refere a sazonalidade e teores de nutrientes minerais.

Os minerais tais como cálcio, cobre, ferro, potássio, manganês, sódio e Zn são de grande importância nutricional para uma grande variedade de organismos vivos, onde atuam em vários processos metabólicos. No entanto, para o organismo humano, a quantidade de minerais ingeridos diariamente deve seguir as recomendações da Organização Mundial de Saúde.

Este trabalho tem o propósito de responder às indagações: Plantas de *Cecropia obtusa* e *Cecropia palmata* apresentam efeito antioxidantes? Os períodos de maior e menor precipitação pluviométrica que ocorre na Amazônia influenciam nos teores de nutrientes minerais nas espécies *Cecropia obtusa* e *Cecropia palmata* ? Os teores de minerais nos chás das folhas dessas espécies estão de acordo com os recomendados pela Organização Mundial de Saúde (OMS)?

## 1.1 Objetivos

Visando contribuir sobre a elucidação de propriedades químicas, fitoquímicas e biológicas das espécies *Cecropia palmata* e *Cecropia obtusa*, os objetivos deste trabalho são:

### 1.1.1 Geral

Avaliar o potencial antioxidante, e a influencia da sazonalidade sobre os teores de minerais em *C. obtusa* e *C. palmata* espécies características da Amazônia.

### 1.1.2 Específicos

- Determinar os teores de fenois totais (FT) e flavonoides em extrato seco de folhas das espécies *C. palmata* e *C. obtusa*.
- Investigar a capacidade antioxidante em extrato seco de folhas das espécies *C. palmata* e *C. obtusa* através do método de sequestro de radical livre pelo DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazina).

- Determinar por espectrometria de emissão atômica, os teores de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, sódio, manganês e zinco na matéria seca e chás de folhas de *C. palmata* e *C. obtusa*.
- Avaliar através de análise de componentes principais (PCA) e hierárquica de agrupamento (HCA), a influência da sazonalidade nos teores dos minerais de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, sódio, manganês e zinco na matéria seca de folhas de *C. palmata* e *C. obtusa*.
- Avaliar os teores de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, sódio, manganês e zinco em chás de folhas de *C. palmata* e *C. obtusa*, dentro dos limites máximos permitidos pela OMS.

## 1.2 Referencial teórico

### 1.2.1 Amazônia e sua biodiversidade

O Brasil é o país com maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 55.000. Dessas, apenas 8% foram estudadas em busca de compostos biativos e 1.100 espécies foram avaliadas em suas propriedades medicinais (SIMÕES et al., 2003; LEITE, 2009).

A Amazônia tem sido foco da atenção mundial como natureza e como sociedade, destacando-se pela importância da maior floresta tropical do planeta e como acervo, a biodiversidade, que desempenha papel fundamental no contexto econômico, social e cultural das populações tradicionais. Uma das estratégias fundamentais para o desenvolvimento da Amazônia está na aplicação sistemática da ciência e da tecnologia para o uso e exploração de sua biodiversidade, no sentido de anular o hiato de tempo existente entre formas modernas e sustentáveis de uso de seus recursos naturais e as necessidades cotidianas de suas populações. A Amazônia abriga uma grande diversidade de espécies de plantas detentoras de propriedades medicinais comprovadas, muitas das quais, são desconhecidos seus efeitos terapêuticos e princípios ativos, mas que têm dado grande contribuição ao longo de diversas décadas por meio do resgate do conhecimento popular (LEITE, 2009).

Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e quintais residenciais. Observa-se, portanto, uma disparidade entre a quantidade e a diversidade da flora medicinal, e a ausência de levantamentos etnofarmacológicos dessas plantas. Segundo (Di Stasi et al., 2002), aliar o conhecimento popular com o conhecimento científico, somando-se a isso a busca de novos medicamentos, especialmente fitoterápicos, assim como a obtenção de renda adicional para as famílias que habitam os ecossistemas florestais ou seu entorno com a exploração sustentável desses recursos e sua consequente conservação, não pode ser apenas a retórica, mas a base das pesquisas na área de plantas medicinais.

A importância da Amazônia não se restringe apenas às espécies animais e vegetais, mas diz respeito também à riqueza do conhecimento popular acerca do uso terapêutico das plantas, assim, o estudo das plantas medicinais se faz necessário pela necessidade de uma terapêutica alternativa em consequência do baixo poder aquisitivo, difícil acesso à assistência médica e ainda a grande influência cultural da região (DI STASI; HIRUDA-LIMA, 2002). Na região amazônica as plantas medicinais, são muitas vezes o principal meio de tratamento de doenças para a maioria das populações pobres devido às influências culturais e ao custo proibitivo dos produtos farmacêuticos. Para um grande número de pessoas da zona rural e mesmo urbana, nessa região, as plantas medicinais oferecem o único meio de tratamento disponível, tanto para as doenças menos graves quanto para as mais sérias.

A Amazônia é uma região tropical imensa com alta diversidade biológica e com muita água onde a floresta interage fortemente com a atmosfera, rios e lago. As chuvas (deposição úmida) e os aerossóis (deposição seca) representam importantes entradas de alguns nutrientes, e a importância relativa dessas fontes pode variar de nutriente para outro (LUIZÃO, 2007).

### 1.2.2 Importância das plantas medicinais

A Organização Mundial de Saúde (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2002) define planta medicinal como sendo todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos.

As plantas sempre tiveram um papel importante na medicina e na saúde pública. Nos países em desenvolvimento, 80% da população utiliza a medicina baseada no uso principalmente de fitoterápicos. Nas últimas décadas, houve uma revalorização mundial do

uso de produtos terapêuticos de origem vegetal pela comprovação em tratamentos de inúmeras doenças. Um reflexo disto é o crescente consumo de fitoterápicos no Brasil. A Organização Mundial de Saúde (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SAÚDE - OMS, 2002), estima que 28% das drogas atualmente prescritas no mundo são derivadas de plantas, enquanto 11% das 252 drogas consideradas essenciais são obtidas exclusivamente de plantas (RATES, 2004).

As plantas medicinais além de seu uso na medicina popular com finalidade terapêutica, têm dado sua contribuição como fonte natural de novos fármacos amplamente utilizados na clínica médica, como por exemplo a morfina, emetina, colchichina e muitas outras. Atualmente, cerca de 25% dos fármacos utilizados são de origem vegetal, enquanto 50% deles são de origem sintética, mas relacionados aos princípios isolados de plantas medicinais (YUNES; CALIXTO, 2001). Segundo Simão e Schenkel (2002), a potencialidade das plantas medicinais para o desenvolvimento de fármacos e matéria prima farmacêutica, fundamenta-se no tripé: biodiversidade, aceitabilidade e mercado econômico.

Um aspecto importante, quando se trata de plantas medicinais, é o fato do seu estudo e desenvolvimento ter um caráter interdisciplinar envolvendo além do conhecimento popular, estudos químicos, farmacológicos e agrônômicos. Mesmo considerando os enormes avanços de pesquisas nessa área, dados etnofarmacológicos continuam sendo a principal base para a escolha de plantas medicinais para muitos estudos voltados para a obtenção de novos medicamentos, especialmente quando esses dados se referem a espécies nativas de ecossistemas florestais pouco conhecidos em sua complexidade, como é o caso da Amazônia.

Desde 1997, a OMS tem incentivado o estudo de plantas tradicionalmente conhecidas como medicinais, com o objetivo de avaliar cientificamente os benefícios da sua utilização como medicamentos fitoterápicos e de conhecer, ao mesmo tempo, os riscos de seu uso indevido. No Brasil, muitos centros de pesquisa vêm desenvolvendo estudos sobre ação farmacológica de plantas medicinais, visto que faltam ainda evidências laboratoriais e clínicas sobre a eficácia e a segurança de muitas dessas plantas, onde seus méritos terapêuticos devem-se principalmente a informações contidas na literatura etnofarmacológica.

Muitas plantas da floresta amazônica têm sido utilizadas como fármacos naturais pelas populações locais no tratamento de várias doenças tropicais, incluindo esquistosomose, leishmaniose, malária e infecções fúngicas e bacterianas. A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de seus constituintes bioativos têm sido atualmente, objeto de vários estudos, onde já foram comprovadas ações farmacológicas (SIMÕES et al. 2010).

Dentre as formas de uso das plantas medicinais como fonte terapêuticas, incluem-se os chás, os extratos brutos, ou suas frações padronizadas em preparações farmacêuticas, e os compostos isolados usados diretamente como droga (RATES, 2004; ASSOLINI; TEDESCO; CARPES, 2006).

Historicamente, o consumo de chás no Brasil está relacionado às práticas curativas, tendo sua origem principal nas culturas indígenas e negras. No final do século XX, com o desenvolvimento de novos métodos analíticos e de modelos para ensaios farmacológicos, aumentou o interesse pela pesquisa de plantas medicinais, constituindo as bases científicas da fitoterapia. Apesar das informações sobre o uso medicinal tradicional dos chás que indica a potencialidade dessas espécies como fonte de moléculas bioativas para o desenvolvimento de novas drogas, é ainda grande o número de espécies não estudadas, sendo que seu uso indiscriminado pode trazer grandes riscos para o organismo (LEITE, 2009).

Considerando-se que no cultivo de plantas medicinais se busca a obtenção de matéria-prima em quantidade e qualidade desejada, deve-se tentar diminuir a interferência dos fatores ambientais, técnicos e da variabilidade química natural das espécies. Para tal, é fundamental que essas técnicas sejam desenvolvidas respeitando-se as condições edafoclimáticas regionais, visto que o metabolismo das plantas é afetado pelo meio ambiente. Dessa forma, no estudo de plantas medicinais, deve-se estar atento para questões como origem, luminosidade, regime de chuvas, crescimento e desenvolvimento da planta (LEITE, 2009).

### 1.2.3 Cecropiaceae

A família botânica Cecropiaceae pertence a ordem Urticales, inclui aproximadamente 180 espécies, distribuídas em seis gêneros, entre eles destaca-se o *Cecropia*, como importante fonte de espécies medicinais e com grande ocorrência no Brasil. *Cecropia* são plantas características da flora neotropical, pioneiras na regeneração natural de área degradada ou agrícola, que foi abandonada ou queimadas, terrenos baixos e capoeirão onde é colonizadora, se estabelecendo rapidamente, promovendo a ocupação do solo e sombreamento para futuras plantas (RIBEIRO, 2010; DI STASI; HIRUDA-LIMA, 2002). Segundo Berg (1996), no Brasil, foram registradas 180 espécies de *Cecropia*, sendo que 15 podem ser encontradas na Amazônia.

Dentre as espécies de *Cecropia* de ocorrência da flora Amazônica destacam-se a *Cecropia palmata* Willd. e *Cecropia obtusa* Trécul conhecidas como imbaúba vermelha e

imbaúba branca, respectivamente (BERG; ROSSELI, 2005). Essas espécies ocorrem nos estados do Pará, Roraima, Amazonas e Rondônia, onde recebem nomes populares como ambaí, ambaitinga, aimbaíba, imbaúba-branca imbaúba-vermelha, imbaubeira, torém (ROMANIUC NETO; GAGLIOTI, 1999; CAMARGOS et al., 2001; BERG; ROSSELI 2005).

De modo geral plantas *Cecropia* são árvores com aproximadamente 10 a 15 metros de altura caule e ramos com entrenós ocos, anel retidono, geralmente com muitas formigas, folhas simples, grandes, largas, alternas, orbiculares, em formato de mão aberta, coriácea a sub coriácea, divididas em lobos variando entre 7 a 9, inseridas de forma alternada nos ramos por longos pecíolos, a base com ou sem triquílio, região produtora de corpúsculo de Müller, que são tricomas, elipsóides, produtores de proteínas utilizadas por formigas do gênero *Azteca*, onde habitam caules e ramos ocos (MARTINS; PIRANI, 2010). Na *C. palmata* Willd, embaúba vermelha, na parte inferior do limbo (face abaxial), encontram-se muitos tricomas (pêlos) vermelhos, característica dessa espécie, o pecíolo apresenta-se avermelhado pelos tricomas aracnóideos (“pêlos” semelhantes a teia de aranha). *Cecropia obtusa* Trec., árvore de aproximadamente 15 metros de altura, apresentado anéis retidono, geralmente com muitas formigas, folhas grandes peltadas, inseridas de forma alternada nos ramos, divididas em 7 a 9 lobos obvais, arredondados, apresentando pecíolos longos com 35 a 38 cm de comprimento, inseridos de forma alternada nos ramos, parte inferior de cor verde branqueada ou prateada (CORREA, 1969).

Existem vários relatos do uso de *Cecropia* na medicina popular para o tratamento de diabetes, perturbações do fígado, pressão alta, problemas do coração e doenças do aparelho respiratório, tais como asma, bronquites, tosse, coqueluche e pneumonia (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). Estudos farmacológicos têm sido desenvolvidos para explicar e confirmar alguns dos muitos usos das várias espécies de *Cecropia* na medicina popular. Para a espécie *C. glaziovii*, foi estudado o efeito antidepressivo (LIMA-LANDMAN et al., 2007; ROCHA et al., (2007), inibidor de secreção gástrica (SOUCCAR et al., 2008), bronco dilatador (TANAE et al., 2007), inibidor de bronco esparmo induzido por histamina (DELARCINA et al., 2007), efeito mutagênico (STANGE et al., 2009). Para a espécie *C. lyratiloba* foi relatada a atividade na contratilidade cardíaca (RAMOS et al., 2006). A *Cecropia. peltata* apresentou atividade antimicrobiana (ROJAS et al., 2006) e hipoglicemiante (ANDRADE-CETTO; CARDENAS; RAMÍRES-PERES, 2007). Estudos com a espécie *C. obtusifolia* Bertola, indicaram que o extrato aquoso das folhas apresenta baixa toxicidade, alto efeito antiinflamatório e atividade analgésica *in vivo* (PÉRES-GUERRERO et al., 2001).

A espécie *C. pachystachia* Trec., apresentou atividade cardiotônica e sedativa (CONSOLINI et al., 2006) e seu potencial hipogliceminante em ratos diabéticos induzidos por aloxano foi estudado por ARAGÃO (2009). Essa espécie apresentou atividade antioxidante no extrato de metanol *in vivo*, onde foi induzida a peroxidação de lipídios por sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>) e tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>) (VELÁSQUEZ et al., 2003). Estudos químicos identificaram atividade antioxidante em *C. glaziovii* Sneth (PETRONILHO, 2004) e *C. lyratiloba* Andr. (BOSCOLO et al., 2007).

As espécies do gênero *Cecropia* apresentam como principais constituintes glicosídeos, lipídeos, alcaloides, flavonóides, taninos catequinas, triterpenos, esteróides e resinas (COSTA et al., 2011). Em *Cecropia* foram ainda identificados dois constituintes que exercem efeito hipoglicemiante: ácido clorogênico e flavona (TANAE et al., 2007; ANDRADE-CETTO; WIEDNENFELD, 2001). Embora se tenha conhecimento de estudos com grande número de espécies de *Cecropia* encontradas no Brasil, não existem dados no que se refere aos estudos farmacológicos e constituintes químicos em *C. obtusa* e *C. palmata* encontradas na Amazônia.

#### 1.2.4 Radicais Livres

Os radicais livres de oxigênio são produzidos naturalmente em nosso organismo através de processo metabólicos oxidativo. A geração intracelular de espécies reativas em níveis fisiológicos normais, quando não lesiva a célula, tem importante papel, uma vez que, produzidas de forma controlada atuam na regulação da sinalização celular e expressão gênica (SEIFRIED et al., 2007).

Nos últimos anos, estudos têm indicado o papel chave dos radicais livres de oxigênio como grandes responsáveis por doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio no sistema imune e disfunções cerebrais (ATOIU et al., 2005). Evidências indicam que a produção de radicais livres contribuem para a etiologia de muitas doenças crônicas, incluindo modificações químicas de proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA que podem resultar em uma variedade de consequências biológicas: lesões teciduais, mutações, carcinogênese, comprometimento do sistema imunológico, doenças e morte celular (COSTA; MONTEIRO, 2009).

Apesar de todos os componentes celulares serem suscetíveis a ação de diferentes espécies reativas, a membrana é uma das mais atingidas em decorrência da peroxidação

lipídica, que acarreta alterações na sua estrutura e na sua permeabilidade. Consequentemente há perda da seletividade na troca iônica, liberação do conteúdo das organelas (enzimas hidrolíticas dos lisossomos) e formação de produtos citotóxicos, culminando com morte celular (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; YU; CHUNG, 2006).

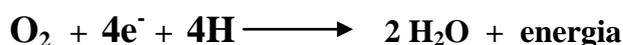
Os processos oxidativos podem ser evitados por meio da modificação das condições ambientais ou pela utilização de mecanismos antioxidantes, com propriedades de impedir ou diminuir o desencadeamento das reações oxidativas e assim, reduzir a indução de danos (SEIFRIED et al., 2007).

Um radical livre pode ser definido como qualquer átomo ou molécula que contém um ou mais elétrons desemparelhados que podem ser formados pela perda de um elétron de um não-radical ou no caso do rompimento de uma ligação colavente, caso cada um dos átomos envolvidos fiquem com um elétron. Essa situação instável é o que confere alta reatividade a essas espécies reativas (HORTON, 2003).

O termo genérico espécie reativa de oxigênio (EAO) é usado para incluir não só os radicais formados pela redução do O<sub>2</sub> como também o radical superóxido e hidroxila, e também a alguns derivados do oxigênio, como o peróxido de hidrogênio e o oxigênio *singlet* (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>). Espécies reativas de oxigênio ocorrem em processos fisiológicos normais quanto patológicos do organismo. Fisiologicamente os radicais livres são importantes em situações em que há necessidade de ativação do sistema imunológico, como por exemplo, os macrófagos utilizam o peróxido de hidrogênio e o superóxido para destruir bactérias e outros elementos estranhos (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Em condições fisiológicas de metabolismo celular aeróbio, o oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) sofre redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons, resultando na formação de água (Reação 1), reação catalisada pela enzima citocromo oxidase que têm a função de acrescentar quatro elétrons em cada molécula de oxigênio para gerar duas moléculas de água (SCHENIDER; OLIVEIRA, 2004).

Reação 1 - Redução tetravalente do oxigênio



Porém, com sua configuração eletrônica, o oxigênio tem uma forte tendência a receber um elétron de cada vez formando compostos intermediários altamente reativos, como o ânion

radical superóxido ( $O_2^*$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $OH^*$ ), sendo que, alguns desses compostos são formados no processo de transformação celular do oxigênio até a água. As Reações 2, 3, 4 mostram a redução tetravalente do oxigênio molecular até a formação de água (SCHENIDER; OLIVEIRA, 2004).

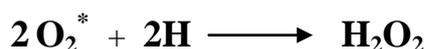
A adição de um elétron a uma molécula de oxigênio no estado fundamental (Reação 2) gera a formação do radical superóxido ( $O_2^*$ ).

Reação 2 - Formação de superóxido ( $O_2^*$ )



O superóxido ao receber mais um elétron e dois íons de hidrogênio, forma o radical peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), através do processo chamado dismutação (Reação 3), reação catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD), encontrada em condições elevadas no organismo (FRANCO et al., 2009).

Reação 3 - Dismutação do  $O_2^*$  pela enzima SOD para produção do intermediário peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ )



Quando o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) recebe mais um elétron e um hidrogênio é formado o radical hidroxila ( $HO^*$ ), que é o mais reativo dos intermediários, pois pode reagir com todos os tipos de macromoléculas biológicas, alterar qualquer estrutura celular que esteja próxima e assim influenciar enzimas, membranas, ácidos graxos insaturados que podem sofrer peroxidação lipídica, sendo o principal alvo do radical hidroxila o DNA (ISIDÓRIO, 2007). O radical hidroxila, pode ser gerado quando o  $H_2O_2$  reage com o íon cobre ( $Cu^{+2}$ ) ou ferro ( $Fe^{+2}$ ). Esta reação é conhecida como Reação de Fenton (FRANCO et al., 2009) (Reação 4).

Reação 4 - Formação do radical hidroxila ( $HO^*$ ) - Reação de Fenton



Esses metabólitos derivados do oxigênio, considerados em conjuntos, são denominados, de espécies reativas de oxigênio (ERO). Cada ERO têm sua própria característica, mostrando diferentes reatividades e tempo de meia-vida. Os hidroperóxidos formados na peroxidação lipídica têm vida curta e quando reagem com metais formam aldeídos e epóxidos, os quais são reativos e causam danos ao DNA (ISIDÓRIO, 2007).

Estudos mostram que compostos fenólicos obtidos de plantas são responsáveis pela inibição da peroxidação lipídica, possuindo assim uma atividade protetora sobre constituintes lipídicos do organismo, bem como o DNA celular (MATSUMOTO, 2008)

A peroxidação de lipídios (lipoperoxidação) é um processo fisiológico contínuo que ocorre nas membranas celulares. As membranas celulares por serem formadas em grande parte por lipídios e proteínas são vulneráveis ao ataque oxidativo, podendo haver modificação em suas propriedades, como alterações na estrutura e na permeabilidade (MATSUMOTO, 2008).

A produção de radicais livres pode ser controlada nos seres vivos por diversos compostos denominados antioxidantes, que podem ser sintetizados no próprio organismo como pela enzima superóxido dismutase, ou oriundos da dieta alimentar, tais como ácido ascórbico (vitamina C), tocoferóis (vitamina E), polifenóis e carotenoides. Pesquisas recentes mostram que extratos de plantas podem exercer ação antioxidante sendo indicados para atenuar ou prevenir os efeitos deletérios do estresse oxidativo celular (ROCHA et al., 2007; BALESTRIM, 2008; PITARO, 2012).

### 1.2.5 Antioxidantes

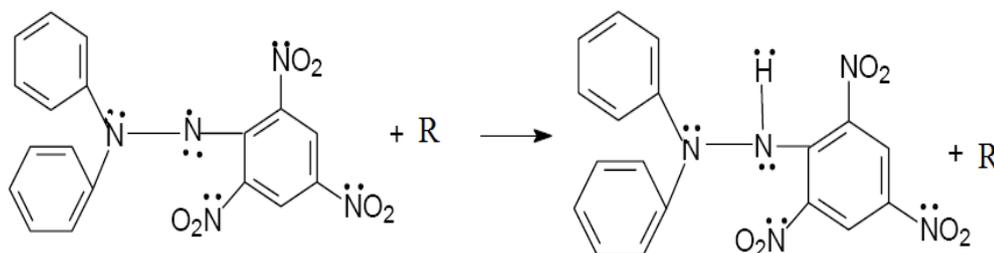
De modo geral, denomina-se antioxidante as substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que eles ataquem os alvos biológicos nas células. Os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (RATNAM et al., 2006).

Assim, um antioxidante é qualquer substância capaz de retardar ou impedir danos devido à oxidação estando presente em pequenas concentrações, quando comparado ao agente oxidante. As substâncias antioxidantes podem apresentar diferentes propriedades protetoras e agir em diversas etapas do processo oxidativo, funcionando por diferentes mecanismos

(OLIVARES; CABRERA; MARTÍNEZ, 2010), podendo ser de origem endógena (sintetizadas pelo organismo) e exógena (provenientes de fontes externas como as plantas). Efeitos protetores no organismo têm sido atribuídos, em grande parte, à presença de antioxidantes como os compostos fenólicos presentes em abundância em plantas (COSTA; MONTEIRO, 2009; SOUSA et al., 2007).

A atividade antioxidante de amostras de extratos de plantas pode ser avaliada de maneira eficiente pelo método de DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazila) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995), sendo um dos métodos químicos mais aplicados para determinar a capacidade de um composto em captar radicais livres, é considerado um método prático, rápido e estável (CAI et al., 2004). O método consiste na redução do radical DPPH, quando ele entra em contacto com um composto capaz de doar um elétron ou átomo de hidrogênio, alterando a cor da solução metanólica de DPPH de violeta para amarelo, produzindo um decréscimo da absorbância a 515, Figura 1. (MILARDOVIC; IVEKOVIC; GRABARIC, 2006; RUFINO et al., 2007).

Figura 1- Reação química gerada pelo método do sequestro do radical DPPH



**Fonte:** Milardovic, Ivekovic e Grabaric (2006).

A partir da equação da curva analítica do DPPH e dos valores de absorbância, este método permite a determinação da porcentagem da concentração eficiente (50%), também chamada de concentração inibitória, definida como a quantidade de oxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (RUFINO et al., 2007).

### 1.2.6 Compostos Fenolicos

Os vegetais superiores sintetizam e acumulam grandes quantidades de compostos fenólicos. Esse grupo de substância faz parte do metabolismo secundário, que embora não

sejam essenciais às plantas, garantem vantagens para sua sobrevivência e para perpetuação de sua espécie em seus ecossistemas (LEITE, 2009).

O termo “fenólico” ou “polifenol” pode ser definido como substâncias que têm um ou mais núcleos aromáticos contendo constituintes hidroxilados, e /ou seu derivados funcionais ésteres, glicosídeos e outros. Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, e cerca de 8000 já foram detectados em plantas. Englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização, podendo se apresentar nas formas livre ou ligados a outros compostos como açúcares e proteínas (ZUANAZZI; MONTANHA, 2003; LEITE, 2009; SIMÕES et al., 2010).

Os fenóis possuem em sua estrutura básica dois anéis aromáticos (A e B) e um anel heterocíclicos oxigenado, com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Os átomos de hidrogênio dos grupos hidroxila adjacentes (orto-difenóis), localizados em várias posições dos anéis A, B e C, as duplas ligações dos anéis benzênicos e a dupla ligação da função oxo ( $-C=O$ ) que garantem a esses compostos sua alta atividade antioxidante (CAI et al., 2004). As diferenças individuais dentro de cada grupo de fenóis resultam da variação no número e posição dos grupamentos hidroxilas, por modificações nos núcleos, e pelo grau de metilação e glicosilação, as quais afetam diversas de suas propriedades (MIDDLETON; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000).

Os compostos fenólicos agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995). Esses compostos são reconhecidos por demonstrar notável variedade de interações bioquímicas, que provavelmente sejam responsáveis pelas suas propriedades antioxidantes (CAI et al., 2004).

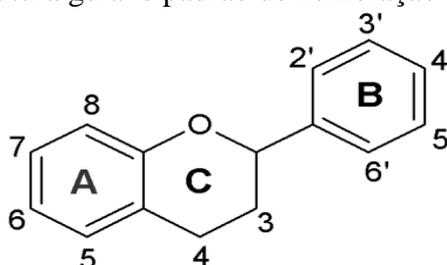
Em geral, os compostos fenólicos costumam ser classificados nas seguintes categorias: 1) fenóis simples, ácidos fenólicos e ácido fenilacético; 2) ácido cinâmico, cumarina, isocumarinas e cromonas; 3) lignanas; 4) flavonoides; 5) ligninas; 6) taninos; 7) benzofenonas, xantonas e estilbenos; 8) quinonas; 9) betacianinas (SIMÕES et al., 2010).

Análise de fenóis totais pode ser realizada por espectrometria, por meio do reagente Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965; FOLIN; DENIS, 1912), utilizando como padrão de referência ácido gálico. Quimicamente a reação é simples, embora a estrutura do complexo inorgânico formado permaneça desconhecida, a reação é uma oxidação-redução na qual o íon fenolato é oxidado sob condições alcalinas, enquanto reduz o complexo

fosfotungstico–fosfomolibdítico, resultando uma coloração azul que absorve fortemente 760 nm.

Os flavonoides apresentam estrutura semelhante, são formados por dois anéis benzênicos (aromáticos), sendo que a diferença entre eles está no grupamento químico ligante aos anéis (ésteres metoxilas glicosídeos e outros). A estrutura básica dos flavonoides está baseada no núcleo flavilium, o qual consiste de três anéis. O benzeno do anel A é condensado com o sexto carbono do anel C, que na posição dois carrega um grupo fenil como substituinte. Os dois anéis benzênicos são unidos por um anel heterocíclico (AHENE; O'BRIEN, 2002). As diferenças dentro de cada grupo resultam de uma variação no número e posição dos grupamentos hidroxilas, por modificação nos números, e pelo grau de metilação e glicosilação, as quais afetam diversas propriedades dos flavonoides, particularmente das moléculas hidrofóbicas (MIDDLETON; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000). Entre os flavonoides destacam-se os formados pela ligação de múltiplas hidroxilas como a quercetina, mircetina e a luteolina, que possuem forte atividade antioxidante (YANG et al., 2001). A Figura 2 mostra a estrutura geral e padrão de numeração dos flavonoides (BIRT; HENDRICH; WANG, 2001).

Figura 2- Estrutura geral e padrão de numeração dos flavonoides



Fonte: Birt; Hendrich; Wang (2001)

Trabalhos recentes têm revelado o enorme potencial para saúde humana de uma das mais importantes classes de compostos fenolicos, os flavonoides, que juntamente com os isoprenoides e alcaloides compreendem as maiores classes de produtos secundários produzidos pelas plantas. São conhecidos mais de 4.200 flavonoides sendo que o número de novas estruturas identificadas praticamente dobrou nos últimos anos (SIMÃO et al., 2003).

Os flavonoides podem ser divididos em diversas classes, entre elas: flavonas, flavonois, isoflavonas e antocianinas. Um grande número de pesquisa demonstram atividades biológicas relacionadas a compostos fenolicos e flavonoides, bem como a determinação da atividade antioxidante em extratos e chás de espécies vegetais (BIRT; HENDRICH; WANG,

2001; ZUANAZZI; MONTANHA, 2003; SOUSA et al., 2007; ROSA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; SILVA, 2010; ANDRADE et al., 2011; SILVA, et al., 2012).

A importância farmacológica dos flavonoides resulta de algumas propriedades como antioxidante, anticarcinogênico, antiinflamatório, antialérgico, entre outras. Estudos revelam que a eficiência dos flavonoides como antioxidante *in vivo*, depende da absorção, do metabolismo e da atividade das formas metoxiladas e conjugadas presentes no plasma. A atividade antioxidante dos flavonoides resulta de uma combinação de suas propriedades de capturar espécies reativas, quelar íons metálicos, inibir o potencial de auto-oxidação e apresentarem a capacidade de modular certas enzimas oxidases tais como lipoxigenases, cicloxigenases, peroxidases e xantina oxidase (HIGDON; FREI, 2003). Outros mecanismos incluem a inibição de enzimas envolvidas diretamente nos processos oxidativos, como é o caso da enzima fosfolipase A, e a estimulação de outras, com conhecidas propriedades antioxidantes como a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD). Assim, os flavonoides podem interferir não só nas reações de propagação de radicais livres, mas também, na formação do radical (HIGDON; FREI, 2003; TRUEBA, 2003).

Os flavonoides também podem agir como pró-oxidantes, esta característica pode estar atribuída a diversos fatores, como as condições de ensaio, a concentração e onde as espécies reativas de oxigênio (ERO) são formadas, a estabilidade do radical flavonoides, formado ao doar um átomo de hidrogênio ao radical livre, o pH do meio, assim como o estado redox de seu ambiente biológico (TRUEBA, 2003; PETRONILHO, 2004).

### 1.2.7 Minerais de importância biológica

Atualmente vários grupos de pesquisa têm demonstrado interesse quanto a determinação de minerais em plantas para fins alimentícios e medicinais, visto que, um grande número de elementos minerais são essenciais para nutrição humana desempenhando funções específicas no organismo. Os minerais são elementos inorgânicos que servem para uma série de funções, atuando como cofatores em várias reações enzimáticas, na regulação do equilíbrio ácido-básico, na condução nervosa, irritabilidade muscular e como elementos estruturais no corpo (CHAMPE; HARVEY, 1996).

Os metais contribuem para o equilíbrio do organismo, no entanto, em excesso podem causar alguns distúrbios (CHAMPE; HARVEY, 1996; OLGA, 2003). Alguns elementos minerais são encontrados em quantidades relativamente baixas no corpo humano e são

chamados oligoelementos, como é o caso do zinco (Zn), ferro (Fe), cobalto (Co), manganês (Mn), níquel (Ni), flúor (F).

O zinco e o manganês servem como ativadores essenciais em uma série de reações enzimáticas, atuando como cofatores, sendo importantes para reprodução e crescimento. O cálcio e o fósforo são os minerais mais abundantes no organismo e considerados como macronutrientes, atuando na formação de ossos, dentes e tecidos. O cálcio existe em duas formas. A maior parte do cálcio corporal é encontrado em forma de cristais de fosfato de cálcio, nos ossos e dentes, formando cemento que contribui para força física destas estruturas. O cálcio também é encontrado em uma forma iônica, não ligado ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e que realiza funções importantes na contração muscular, transmissão dos impulsos nervosos, transporte iônico e transmissão de sinais através das membranas (CHAMPE; HARVEY, 1996). Segundo a Organização Mundial de Saúde, as necessidades diárias recomendadas para o cálcio são de  $500 \text{ mg dia}^{-1}$ , para satisfazer os requisitos de quase todos (97-98%) os indivíduos saudáveis.

O potássio quando associado ao sódio, funcionam na regulação do pH, mantém a osmolaridade dos líquidos intracelulares e extracelulares, regularizam o funcionamento do sistema muscular, e os batimentos cardíacos. O sódio é o principal cátion do fluido extracelular. Segundo a Organização Mundial de Saúde as concentrações diárias recomendadas para o sódio são de  $500 \text{ mg dia}^{-1}$ , e para o potássio  $2.000 \text{ mg dia}^{-1}$  (MAHAN; SCOTT-STUMP, 2005).

O ferro é um componente das moléculas hemoglobina, mioglobina e citocromos e faz parte de alguns sistemas enzimáticos, desempenhando um papel essencial no transporte de oxigênio e respiração celular. Uma deficiência de ferro causa uma redução na velocidade de síntese de hemoglobina, podendo resultar em anemia (HARPER; RODELF; MAYES, 1982; CHAMPE; HARVEY, 1996; OLGA, 2003). Segundo a Organização Mundial de Saúde as concentrações diárias recomendadas para o ferro são de  $20 \text{ mg dia}^{-1}$  (MAHAN; SCOTT-STUMP, 2005).

A caracterização de minerais em plantas medicinais ao longo dos últimos anos têm sido intensificada (ALMEIDA et al., 2002; MARTINS et al., 2009; SAIDELLES et al., 2010; AMARANTES et al., 2011; FRANCO et al., 2011), no entanto, nenhuma referência foi encontrada sobre os teores de minerais nas espécies de *Cecropia* estudadas.

Variações sazonais são relatadas para diversos metabólitos secundários como óleos essenciais, lactonas, fenóis, flavonóides, cumarinas, alcalóides taninos (GLOBO-NETO; LOPES, 2007; COUTINHO et al., 2010). Segundo Bernini et al. (2010), nem sempre se consegue encontrar um padrão sazonal claro na concentração de nutrientes minerais em folhas

de plantas, demonstrando a complexidade na interação de dados em um ambiente onde fatores ambientais interagem de forma sinérgica e antagônica.

## REFERÊNCIAS

- AHENE, A. S.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content and metabolism. *Nutrition*, Philadelphia, USA, v. 18, p. 75-81, 2002.
- ALMEIDA, M. M. B.; LOPES, M. F. G.; NOGUEIRA, C. M. D.; MAGALHÃES, C. E. C.; MORAIS, N. M. T. Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 22, n. 1, p.1-7, 2002.
- AMARANTE, C. B.; SILVA, J. C. F.; MÜLLER, R. C. S.; MÜLLER, A. H. Avaliação da composição mineral do chá da folha senescente de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae) por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS). *Química Nova*, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 419-423, 2011.
- ANDRADE, C. C.; CARVALHO, J. L. S.; CUNICO, M. M.; LORDELLO, A. L. L.; HIGAAKINO, E. K.; ALMEIDA, S. C. C.; DIAS, J. F. G. D.; KERBER, V. A.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Antioxidant and antibacterial activity of extracts, fractions and isolated substances from the flowers of *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, São Paulo, v. 46, n. 4, 2010.
- ANDRADE-CETTO, A.; WIENDENFELD, H. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Geneva, Switzerland, v. 78, p. 145-149, 2001.
- \_\_\_\_\_; CARDENAS, R.; RAMÍRES-PERES, B. Hypoglycemic effect of *Cecropia peltata* L. on N5-STZ type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Geneva, Switzerland, v. 3, p. 110-203, 2007.
- ARAGÃO, D. M. O. *Perfil químico do extrato metanólico de Cecropia pachystachya e seu potencial hipoglicemiante em ratos diabéticos induzidos por aloxano*. Juiz de Fora, 2009 Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, 2009.
- ASSOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, SP, v. 9, n. 3, p. 209-215, 2006.
- ATOIU, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, Inglaterra, v. 89, n. 27, 2005.
- BALESTRIM, E. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Derstenis multiformis* Miquel (Moraceae) com abordagem em atividade antioxidante. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 18, n. 2, p. 230-235, 2008.
- BERG, C. C. *Cecropia* (Cecropiaceae) no Brasil, ao Sul da Bacia Amazônica, *Albertoa*, Rio de Janeiro, v.4, n.16, p.218-219, 1996.
- \_\_\_\_\_.; ROSSELI, F. P. *Cecropia*. Nova York: New Yor Botanical Gard, 2005. 233 p. (Flora Neotropica Monograph, 94).

- BERNINI, E.; DA SILVA, M. A. B.; DO CARMO, T. M. S.; CUZZUOL, G. R. F. Spatial and temporal variation of the nutrients in the sediment and leaves of two Brazilian mangrove species and their role in the retention of environmental heavy metals. *Brazilian Journal of plant Physiology*, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p. 177-187, 2010.
- BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, Indianapolis, EUA, v. 90, p. 157-177, 2001.
- BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, Campinas, SP, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BOSCOLO, O. H.; MENDONÇA-FILHO, R. F. W.; MENEZES, F. S.; SENNA-VALE, L. Potencial antioxidante de algumas plantas de restinga citadas como medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, SP, v. 9, n. 1, p. 8-12, 2007.
- CAI, Y. Z.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, USA, v. 74, n. 17, p. 2157-2184, 2004
- CAMARGOS, J. A. A.; CORADIN, V. T. R.; CZARNESKI, C. M.; OLIVEIRA, D.; MEGUERDITCHIAN, I. *Catálogo de árvores do Brasil*. 2. ed. Brasília, DF: IBAMA, 2001. 896 p.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. *Bioquímica ilustrada*. 2. ed. Artes Médicas: Porto Alegre. 1996. 705 p.
- CONSOLINI, A. G.; RAGONE, M. I.; MIGLIORI, G. N.; CONFORTI, P.; VOLONTE, M. G. Cardiotoxic and sedative effects of *Cecropia pachystachya* Mart. (amby) on isolated rat hearts and conscious mice. *Journal of Ethnopharmacology*, Geneva, Switzerland, v. 106, p. 90-96, 2006.
- CORREA, M. P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Ministério da Agricultura: Rio de Janeiro, 1969. v. 4.
- COSTA, P. R. F.; MONTEIRO, A. R. G. Benefícios dos antioxidantes na alimentação. *Revista de Saúde e Pesquisa*, Maringá, PR, v. 2, n. 1, p. 87-90, 2009.
- COSTA, M. G.; ORTOMANN, F.; SCHENKEL, P. E.; REGINATTO, H. F. An HPLC-DAD method to quantification of main phenolic compounds from Leaves of *Cecropia* Species. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Campinas, SP, p. 1-7, 2011.
- COUTINHO, I. D.; KATAOKA, V. M. F.; HONDA, N. K.; COELHO, R. G.; VIEIRA, M. C. CARDOSO, C. A. L. Influencia da variação sazonal nos teores de flavonóides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 20, n. 3, 2010.

DELARCINA, J. S.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; SOUCCAR, C.; CYSNEIROS, R. M.; TANAE, M. M.; LAPA, A. J. Inhibition of histamine-induced bronchospasm in guinea pigs treated with *Cecropia glaziovii* Sneth and correlation with the *in vitro* activity in tracheal muscles. *Phytomedicine*, USA, v. 14, p. 324-332, 2007.

DI STASI, L. C.; OLIVEIRA, G. P.; CARVALHAES, M. A.; QUEIROZ-JUNIOR, M.; TIENA, O.; AKINAMIA, S. H.; REIS, M. S. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. *Fitoterapia*, Philadelphia, USA, v. 73, p. 69-91, 2002.

\_\_\_\_\_.; HIRUMA-LIMA C. A. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. 2. ed. São Paulo: UNESP. 2002.

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

FOLIN, O.; DENIS, W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as colour reagents. *Journal of Biological Chemistry*, USA, v. 12, p. 239-343, 1912.

FRANCO, R.; SANCHEZ-OLEA, R.; REYES-REYES, E. M.; PANAYIOTIDIS, M. I. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: ménage à trois. *Mutation Research*, USA, v. 674, p. 3-22, 2009.

FRANCO, M. J.; CAETANO, I. C. S.; CAETANO, J.; DRAGUNSKI, D. N. C.; Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama - PR *Arquivo Ciência e Saúde*, UNIPAR, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 121-127, 2011.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundário. *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

HARPER, H.; RODELF, V. W.; MAYES, R. A. *Manual de química fisiológica*. 5. ed. Atheneu: São Paulo, 1982. 705 p.

HIGDON, J. H.; FREI, B. Tea catechins and polyphenols: heat effect, metabolism and antioxidant function. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Londres, v. 43, p. 89-143, 2003.

HORTON, J. W. Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology*, USA, v. 189, p. 75-88, 2003.

ISIDÓRIO, M. S. Exercício e estresse oxidativo. *Revista Mineira de Educação Física*, Viçosa, v. 15, n. 1, p. 70-86, 2007.

LEITE, J. P. V. *Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas*. São Paulo: Atheneu, 2009. 328 p.

LIMA-LANDMAN, M. T. T.; BORGES, A. C. R.; CYSNEIROS, R. M.; LIMA, T. C. M.; SOUCCAR, C.; LAPA, A. J. Antihypertensive effect of a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth in rats: an *in vivo* approach to the hypotensive mechanism. *Phytomedicine*, USA, v. 14, p. 314-320, 2007.

LUIZÃO, F. J. Ciclo de nutrientes na Amazônia: respostas climáticas às mudanças ambientais e climáticas. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 59, n. 3, 2007.

MAHAN, L. K.; SCOTT-STUMP, S. Krause alimentos, nutrição & dietoterapia. In: Anderson, J. J. B. *Minerais*. 11 ed. São Paulo: Roca. 2005. p. 115-155.

MATSUMOTO, R. L. T. *Atividade antioxidante do chá mate (Ilex paraguariensis)*. 2008. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2008.

MARTINS, A. S.; ALVES, C. N.; LAMEIRA, O. A.; SANTOS, A. S.; MÜLLER, R. C. S. Avaliação de minerais em plantas medicinais amazônicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, PB, v. 19, n. 2, p. 621-625, 2009.

MARTINS, E. G. A.; PIRANI, J. R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Urticaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 1-14, 2010.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonóides on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, Bethesda, Maryland, v. 52, n. 4, p. 673-751, 2000.

MILARDOVIC, S.; IVEKOVIC, D.; GRABARIC, B. S. A Novel amperometric method for antioxidante activit determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, Londres, v. 68, p.175-180, 2006.

OLGA, S. *Fundamentos de toxicologia*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

OLIVARES, L. D.; CABRERA, G. B.; MARTÍNEZ, M. T. S. Importancia de lós antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación Ciencia de la Universidad Autônoma de Aguas Calientes*, México, n. 50, p. 10-15, 2010.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SAÚDE - OMS. *Estratégia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005*. Genebra: OMS, 2002. 67 p.

PETRONILHO, F. C. *Avaliação da atividade antioxidante de Cecropia glazioui* Sneth. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2004.

PÉRES-GUERRERO, C.; HERRERA, M. D.; ORTIZ, R.; SOTORMAYOR, M. A.; FERNÁNDEZ, M. A. A Pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extract. *Jounal Ethnopharmacology*, Copenhagen, v. 78, p. 279-284, 2001.

PITARO, S. P.; FIORANI, L. V.; JORGE, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjeriçao (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, Paulínia, SP, v. 14, n. 4, 2012.

RAMOS, A. R.; MONTANI, R. J.; RODRIGUES, O. R.; COELHO, K. M. A.; GATTAS, C. R.; SUDO, R. T.; ZAPATA-SUDO, G. Activy of *Cecropia lyratiloba* extract on contractility of cardiac and amooth musches in Wister rats. *Clinical and Experimental Pharmacology Physiology*, Reino Unido, v. 33, p. 109-113, 2006.

- RATES, S. M. K. Plants as sources of drugs. *Toxicon*, Philadelphia, v. 36, p. 603-613, 2004.
- RATNAM, D. V., ANKOLA, D. D., BHARDWAJ, V., SAHANA, D. K., RAVI KUMAR, M. N. V. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, Netherland, v. 113, p. 189-207, 2006.
- RIBEIRO, G. D. *Algumas espécies de plantas reunidas por famílias e suas propriedades*. Porto Velho, Rondônia: EMBRAPA, 2010. 181 p.
- ROCHA, F. F.; LIMA-LADMAN, M. T. R.; SOUCCAR, C.; TANAE, M. M.; LIMA, T. C. M.; LAPA, A. J. Antidepressant-like effect of *Cecropia glaziovii* Sneth and its constituents - *In vivo* and *in vitro* characterization of the underlying mechanism. *Phytomedicine*, USA, v. 14, p. 396-402, 2007.
- ROJAS, J. J.; OCHOA, V. J.; OCAMPO, A. S.; MUÑOZ, J. F. Screening antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in treatment of non-nosocomial infections. *BCM Complementary and Alternative Medicine*. Medellin, Colombia, v. 6, n. 2, 2006.
- ROMANIUC NETO, S.; GAGLIOTI, A. L. Urticaceae In: LISTA de espécies da flora do Brasil. [Rio de Janeiro]: Instituto de Pesquisa do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, [2012]. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 10 out. 2012.
- ROSA, E. A.; SILVA, B. C.; SILVA, F. M.; TANACA, C. M. A.; PERALTA, R. M.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; FERREIRA, H. D.; SILVA, C. C. Flavonóides e atividade antioxidante em *Palicourea rígida*, Rubiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 18, n. 3, p. 331-338, 2008.
- RUFINO, M. S. S.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G. JIMÉNEZ, J. P.; SAURA-CALIXTO, F. D. *Metodologia científica*: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Embrapa: Fortaleza, CE, 2007, 5 p. (Comunicado Técnico).
- SAIDELLES, A. P. F.; KIRCHENER, R. M.; SANTOS, N. R. Z.; FLORES, E. M. M.; BARTZ, E. R. Análises de metais em amostras comerciais de erva-mate do sul do Brasil. *Alimento e Nutrição*, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 258-265, 2010.
- SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismo de formação e adaptação ao treinamento físico. *Revista Brasileira de Medicina e Esporte*, São Paulo, v. 10, n. 4, 2004.
- SEIFRIED, H. E.; ANDERSON, D. E.; FISHER, E. I.; MILNER, J. A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Philadelphia, v. 18, p. 567-579, 2007.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, PR, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, J. M.; MOTTA, E. V. S.; MENDES, R. F.; SCIO, E. Caracterização fitoquímica, teor de fenóis e flavonóides e avaliação da capacidade antioxidante da folha de *Lacistema pubescens* mart. *HU Revista*, Juiz de Fora, v. 37, n. 3, p. 347-352, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2010.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A Pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessidade interação da indústria com a academia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, PB, v. 12, p. 35-40, 2002.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAM, G.; MELLO, J. C. P.; ENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolis with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. *Americam Journal of Enology Viticulture*, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-148, 1965.

SOUCCAR, C.; CYSNEIROS, R. M.; TANAE, M. M.; TORRES, L. M. B.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; LAPA, A. J. Inibition of gastric acid secretion by a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth and underlying mechanism. *Phytomedicine*, Philadelphia, USA, v. 15, p. 462-469, 2008.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

STANGE, V. S.; GOMES, T. D. U. H.; ANDRADE, M. A.; BATITUCCI, M. C. P. Avaliação do efeito mutagênico do extrato hidroalcoólico bruto, por meio de bioensaio *in vivo* e prospecção fitoquímica de *Cecropia glaziovii* Sneth (embaúba), Cecropiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, PB, v. 19, n. 2b, 2009.

TANAE, M. M.,; LIMA-LANDAM, M. T. R.; LIMA, T. C. M.; SOUCCAR, C.; LAPA, A. J. Chemical standarization of the aqueous extract of *Cecropia glasovii* Sheth end wed winth antypertensive, bronchodilator, antiacid secretion and antidepressant-like activites. *Phytomedicine*, Philadelphia, USA, v. 14, n. 5, p. 309-313, 2007.

TRUEBA, G. P. los flavonóides: antioxidants o proantioxidants. *Revista Cubana de Investigación Biomédicas*, Cuba, v. 48, p. 48-54, 2003.

VELÁZQUEZ, E.; TOURNIER, H. A.; MORDUJOVICH, B. P.; SAAVEDRA, G.; SGINELLA, G. R. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia*, Philadelphia, USA, v. 74, p. 91-97, 2003.

YANG, B.; KOIANI, A.; ARAI, K.; KUSU, F. Relationship of electrochemical oxidation of catechins on their antioxidant activity in microsomal lipid peroxidation. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, Tokyo, v. 49, p. 747-751, 2001.

YU, B. P.; CHUNG, H. Y. Adaptative mechanisms to oxidative stress during aging. *Mechanisms of Aging and Development*, São Paulo, v. 127, p. 436-443, 2006.

YUNES, R. A.; CALIXTO, V. F. Breve análise histórica da química das plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Chapecó: Argos, 2001. 120 p.

ZUANAZZI, J. A. S; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÃO, S. M. O. SCHENKEL, E. P. GORMANN, G. MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PERSOVICK, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: UFGS, 2003. p. 577-614.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. *Trace elements in human nutrition and health*. WHO: Geneva, 1996.

## 2 CAPÍTULO I - COMPOSTOS FENOLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FOLHAS DE *Cecropia palmata* Will. E *Cecropia obtusa* Trécul. (Cecropiaceae)

**RESUMO:** Estudos têm indicado o papel chave dos radicais livres de oxigênio como grandes responsáveis por doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata e declínio no sistema imunológico. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que eles ataquem os alvos biológicos nas células. Compostos fenolicos são reconhecidos por demonstrar notável variedade de interações bioquímicas, que provavelmente sejam responsáveis pelas suas propriedades antioxidantes. Este trabalho teve como objetivo determinar o conteúdo de fenois totais, por espectrofotometria, reagente Folin-Ciocalteu, e como padrão ácido gálico, flavonoides como padrão quercetina, assim como avaliar quantitativamente o potencial antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de folhas de *Cecropia obtusa* e *Cecropia palmata* através do radical livre 2-2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH). O resultado obtido para fenois totais de *Cecropia obtusa* foi de  $429,94 \pm 23,04$  mg de extrato por g equivalente de ácido gálico e para *Cecropia palmata* de  $357,82 \pm 10,57$  mg. O conteúdo de flavonoides para *Cecropia obtusa* foi de  $62,652 \pm 1,13$  mg de equivalente de quercetina/g de amostra e para *Cecropia palmata* de  $54,014 \pm 0,29$  mg. Na determinação da atividade antioxidante dos extratos observa-se que *Cecropia obtusa* apresenta menor valor de  $CE_{50}$   $179,941 \mu\text{g/mL}$ , quando comparada com *Cecropia palmata*  $CE_{50}$   $253,91 \mu\text{g/mL}$ . A quantidade de amostra necessária para descrever a concentração inicial de DPPH em 50% ( $CE_{50}$ ), revelou que as duas espécies apresentam atividade antioxidante. A *Cecropia obtusa* apresenta maior percentagem de atividade antioxidante (%AA) quando comparada com *Cecropia palmata*, na concentração de  $350 \mu\text{g/mL}$ .

**Palavras-chave:** Embaúba. Plantas Medicinais. Radicais Livres.

## 2 CHAPTER I - PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN LEAVES *Cecropia palmata* Will. AND *Cecropia obtuse* Trécul. (Cecropiaceae).

**ABSTRACT:** Studies have shown the key role of oxygen free radicals as largely responsible for degenerative diseases associated with aging such as cancer, cardiovascular disease, cataracts, immune system decline. Antioxidants are capable of stabilizing or deactivate free radicals before they attack targets in biological cells. Phenolic compounds are recognized for demonstrating remarkable array of biochemical interactions, which are probably responsible for its antioxidant properties. This study aimed to determine the content of total phenols, spectrophotometry, Folin-Ciocalteu reagent and gallic acid as standard, flavonoids quercetin as standard, as well as quantitatively evaluate antioxidant potential of hydroalcoholic extracts of leaves of *Cecropia obtusa* and *Cecropia palmata* through free radical 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazine (DPPH). The result obtained for total phenols *Cecropia obtusa* was  $429,94 \pm 23,04$  mg of extract per g equivalent of gallic acid and *Cecropia palmata* of  $357,82 \pm 10,57$  mg. The content of flavonoids to *Cecropia obtusa* was  $62,652 \pm 1,13$  mg of quercetin equivalent/g sample and *Cecropia palmata* of  $54,014 \pm 0,29$  mg. In determining the antioxidant activity of the extracts showed that *Cecropia obtusa* has lower  $EC_{50}$  value 179,941 g/mL, compared with *Cecropia palmata*  $EC_{50}$  253,91 mg/mL. The amount of sample needed to describe the initial concentration of DPPH in 50% ( $EC_{50}$ ) revealed that the two species have antioxidant activity. The *Cecropia obtusa* has a higher percentage of antioxidant activity (%AA) compared with *Cecropia palmata*, the concentration of 350 $\mu$ g/mL.

**Keywords:** Embauba. Medicinal Plants. Free Radicals.

## 2.1 Introdução

Estudos indicam que os radicais livres estão envolvidos em processo de envelhecimento, como também em muitas complicações biológicas incluindo problemas respiratórios, inflamações crônicas, artrites, doenças cardiovasculares dentre outras KUSKOSKI et al., (2006). O termo genérico espécie reativa de oxigênio (ERO) é usado para incluir não só os radicais formados pela redução do  $O_2$ , o radical superóxido e hidroxila, como também alguns derivados do oxigênio, como o peróxido de hidrogênio e o oxigênio *singlet* ( $^1O_2$ ).

Espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como radical hidroxila ( $^*OH$ ), ânion radical superóxido ( $O_2^{*-}$ ) e hidroperoxila ( $ROO^*$ ), são gerados como subprodutos de reações biológicas causando danos ao DNA ou oxidando lipídios e proteínas. A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena ou serem provenientes da dieta alimentar.

Antioxidantes são substâncias que retardam ou previnem significativamente a oxidação de lipídios ou de outras moléculas, inibindo a iniciação ou a propagação das reações de oxidação (LIMA et al., 2006). A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se, principalmente, à sua estrutura química e suas propriedades redutoras. Essas características desempenham papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa inicial como na propagação do processo oxidativo (CAI et al., 2004).

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, mais de 8000 compostos fenólicos já foram detectados em plantas. Englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização, podendo se apresentar nas formas livre ou ligados a outros compostos como açúcares e proteínas (SIMÕES et al., 2003). Esses compostos agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995).

Pesquisas atuais mostram atividades biológicas relacionadas a fenóis e flavonoides, bem como a determinação do potencial antioxidante em extratos e chás de espécies vegetais (BIRT; HENDRICH, S.; WANG, 2001; ZUANAZZI; MONTANHA 2003; SOUSA et al., 2007; ROSA et al., 2008; ANDRADE et al., 2010; SILVA, et al., 2012).

Estudos sobre a fitoquímica e atividade antioxidante têm sido relatados para as

espécies *C. lyratiloba* (BOSCOLO et al., 2007); *C. glaziovii* (LUENGAS-CAICEDO et al., 2009; TANAE et al., 2007; STANGE et al., 2009). Resultados de estudos *in vitro* e *in vivo* da atividade antioxidante com o uso de diferentes frações de extrato de *C. glaziovi* indicaram, que essas frações suprimiram efetivamente a indução de lipoperoxidação em três geradores de radicais livres testados (PETRONILO, 2004). Em análise por método quantitativo HPCL-DAD em extratos de folhas de *C. glaziovii* e *C. pachystachya* foram isolados os flavonoides C-glicosídeos isoorientina e isovitexina além do ácido clorogênico, que se mostrou majoritário nas duas espécies (COSTA et al., 2011).

Para as espécies *C. palmata* e *C. obtusa* poucos estudos são encontrados sobre seus compostos bioativos. Através de estudos químicos de extratos de folhas de *C. obtusa* foram obtidos fenóis, flavonoides e triterpenos (GOMES, 2003), entretanto, não foram encontrados relatos sobre a atividade antioxidante para as duas espécies em estudo.

O objetivo deste trabalho foi de determinar os fenóis totais, flavonoides e o potencial antioxidante de extrato hidroalcoólico seco de folhas de *C. palmata* e *C. obtusa*, como parte da investigação sobre as propriedades químicas e biológicas, dessas duas espécies de plantas.

## 2.2 Material e Métodos

### 2.2.1 Coleta e identificação do material botânico

Foram utilizadas amostras de folhas de *C. palmata* Willd. e *C. obtusa* Trécul. As coletas foram realizadas em fevereiro de 2011, no horário entre 8:30h e 10:00h, de diferentes galhos de uma árvore adulta, sem flores, desenvolvidas sem adubação química, com altura de aproximadamente 8 metros. As folhas de *C. obtusa* foram coletadas no horto de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Oriental - Belém PA, localizada a 1°26'30"S de latitude e 48° 27'0"W de longitude, e de *C. palmata* em área denominada Capoeira do Black, também coletada em área da Embrapa Amazônia Oriental, localizada a 1°26'2"58S de latitude e 48°26'34.39"W de longitude. As espécies de *C. obtusa* e *C. palmata* foram identificadas no Laboratório de Botânica da Embrapa Amazônia Oriental - PA, sob a responsabilidade da Dra. Silvane Tavares Rodrigues. As exsiccatas depositadas no Herbário deste laboratório sob os registros IAN 185555 e IAN 185556 respectivamente.

### 2.2.2 Reagentes e soluções

Todos os solventes e reagentes utilizados foram de grau analítico. O reagente Folin & Ciocalteu's phenol e O DPPH (2,2 - difenil-1-picril hidrazila) foram adquiridos da Sigma Aldrich. O ácido gálico e quercetina da Vertex. Para determinar a faixa linear foram construídas curvas de calibração em concentrações crescentes das soluções padrão. Para o reagente ácido gálico, as concentrações variaram entre 0,0 a 7,0µg/mL, de quercetina de 0,0 a 0,12 µg/mL, e de DPPH as concentrações variaram entre 0,0 a 6,0 µM.

### 2.2.3 Determinação do peso seco total

A determinação do peso seco das amostras das duas espécies foi realizada no Laboratório de Agroindústria da Embrapa Amazônia Oriental. As folhas foram separadas por espécie, cortadas, pesadas, colocadas em bandejas de inox e levadas à estufa de secagem com circulação mecânica (FANEM 320-SE), à temperatura de 45°C por cinco dias. Em seguida, as amostras foram pesadas, trituradas e acondicionadas em sacos plásticos identificados e guardados em geladeira à temperatura de 10° C até o uso.

### 2.2.4 Preparo dos extratos

Os extratos das plantas foram preparados utilizando-se 100 g de folhas secas, trituradas e a extração realizada com o uso de solução hidroalcoólica 80°GL em banho-maria sob refluxo. Os extratos foram concentrados em um tempo de aproximadamente quatro horas em evaporador rotativo (Buch El 131Sibata) a 150 rpm sob pressão reduzida a 45°C acoplado à bomba de vácuo (AAKer). Em seguida, os extratos foram guardados em geladeira até o uso.

### 2.2.5 Determinação de fenois totais

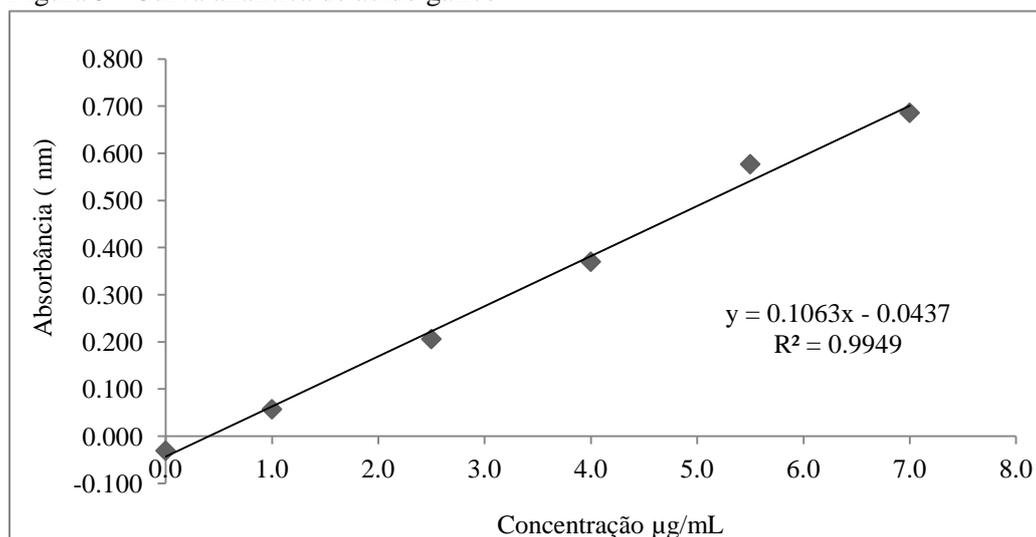
A determinação do teor de fenois totais presentes nas amostras de extrato das duas espécies foi feita por meio de espectrofotômetro UV/Visível, usando o reagente Folin-Ciocalteu, segundo a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965). Para as amostras, foi preparada uma solução de 1 µg/mL do extrato seco em metanol. Dessa solução, transferiu-se 100 µL para um balão volumétrico de 10mL, acrescentou-se 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, 6,0 mL de água destilada, agitando-se por um minuto. Após esta etapa, adicionou-

se 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 20% agitou-se por 30 segundos. Ajustou-se o volume final com água destilada. Após 2 horas de incubação à temperatura ambiente, as absorbâncias das amostras foram medidas em espectrofotômetro a 760 nm, usando como branco metanol.

O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras na curva analítica construída com padrões de ácido gálico (0,0 a 7,0  $\mu\text{g/mL}$ ) expressos em miligrama de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg EAG/g)

A Figura 3 mostra a equação da curva analítica de ácido gálico obtida  $Y = 0,1063X - 0,0437$ , onde  $Y$  é a absorbância  $X$  é a concentração de ácido gálico. O coeficiente de correlação linear foi de  $R^2 = 0,995$ . Todas as soluções foram preparadas em triplicatas.

Figura 3 - Curva analítica de ácido gálico



Fonte: Ramos, T. J. N

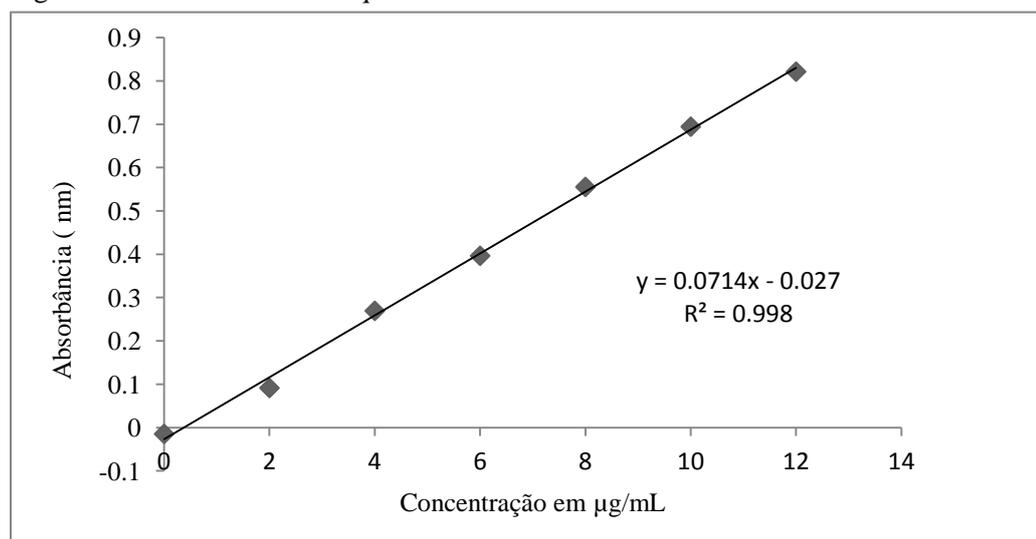
O reagente de Folin-Ciocalteu consiste de uma mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação  $6^+$  e que em presença de substâncias redutoras, como os compostos fenolicos, formam-se o molibdênio e tungstênio de coloração azul, que permite a avaliação da concentração das substâncias redutoras (SOUSA et al., 2007).

#### 2.2.6 Determinação de flavonoides

A determinação dos te flavonoides foi feita de acordo com Rio (1996), utilizando-se a quercetina como padrão, e solução metanólica de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ), com o objetivo

de impedir a interferência de outros compostos fenólicos. Para análise das amostras, foi preparada uma solução metanólica do extrato seco na concentração de 1 mg/mL. Desta solução foi retirado 1 mL e colocado em balão volumétrico de 10 mL. Em seguida adicionou-se 0,2 mL de solução metanólica de  $\text{AlCl}_3$ , sendo o volume final ajustado para 10 mL com metanol. Após repouso de 30 minutos, fez-se leitura a 425 nm em espectrofotômetro UV/Visível. A análise foi feita usando como branco, água destilada. O teor de flavonóides foi determinado por interpolação da absorbância das amostras utilizando a curva de calibração construída com padrões de quercetina (0,0 a 12,0  $\mu\text{g/ml}$ ), e os resultados expressos como mg de quercetina por g de amostra (mg EQ/g). A Figura 4 mostra a equação da curva analítica de quercetina  $Y = 0,0714X - 0,027$  onde  $Y$  é a absorbância,  $X$  a concentração de quercetina, e o coeficiente de correlação linear  $R^2 = 0,998$ .

Figura 4 - Curva analítica de quercetina.



Fonte: Ramos, T. J. N.

### 2.2.7 Determinação da atividade antioxidante (AA)

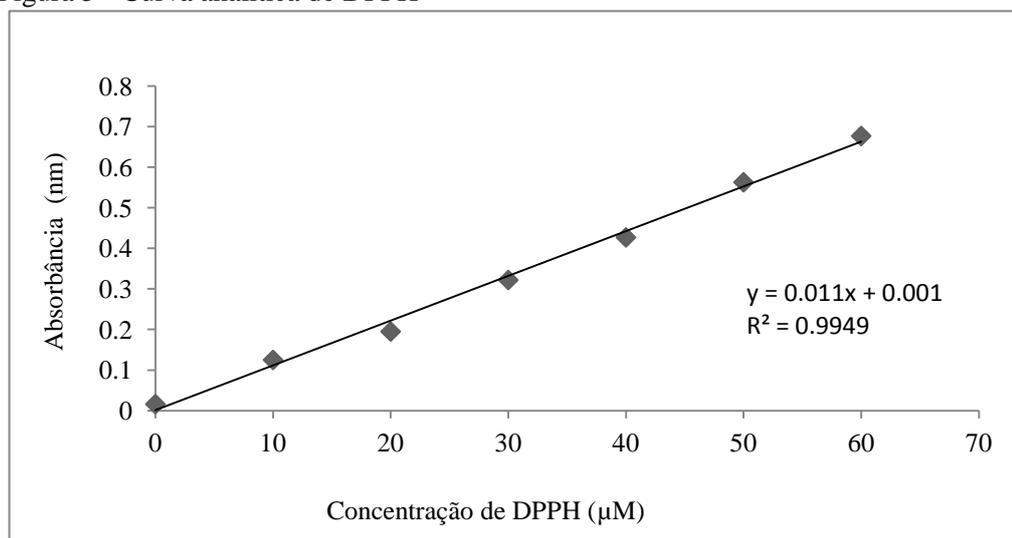
Para determinação da atividade antioxidante nas amostras de *C. obtusa* e *C. palmata* foi utilizado o 2-2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH), segundo a metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). O potencial antioxidante foi avaliado através do monitoramento do consumo de radical livre DPPH pela amostra, através da medida do decréscimo da absorbância realizada em espectrofotômetro UV-Visível, comprimento de onda de 515nm. No início da reação, o radical DPPH apresenta uma coloração púrpura e após a complexação com o antioxidante essa tonalidade é modificada, passando para amarela. Para

os cálculos da atividade antioxidante foi utilizada a metodologia descrita por Rufino et al. (2007).

Para obtenção da curva analítica foi preparada uma solução de DPPH em metanol na concentração de 60  $\mu\text{g}/\text{Mol}$ , mantida em temperatura ambiente e abrigo de luz. Foram feitas diluições de 0,0 a 60  $\mu\text{g}/\text{Mol}$ . A curva foi construída a partir das medidas de absorvância a 515 nm, e como controle, solução de metanol.

A Figura 5 mostra a relação entre a concentração de DPPH ( $\mu\text{M}$ ) e absorvância. A equação da curva de calibração obtida foi  $Y = 0,011X + 0,001$ , onde  $Y$  é a medida no comprimento de onda 515nm e  $X$  a concentração de DPPH. O coeficiente de correlação  $R^2 = 0,9949$ .

Figura 5 - Curva analítica de DPPH



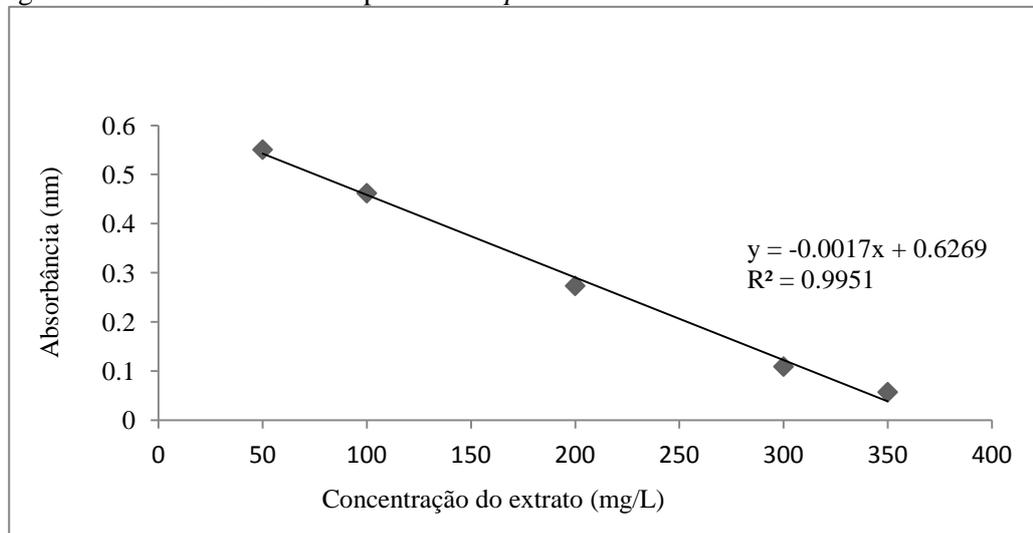
Fonte: Ramos, T. J. N.

Para leitura das amostras de *Cecropia* foram preparadas soluções metanólicas nas concentrações 50, 100, 200, 300 e 350  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , e solução de 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH) de concentração de 60  $\mu\text{g}/\text{Mol}$ . Alíquotas de 0,1mL da solução de DPPH foram adicionadas em 3,9 mL da solução de cada amostra nas diferentes concentrações e incubadas por 30 minutos até a leitura. O controle foi preparado substituindo a amostra pelo metanol.

A Figura 6 mostra a relação entre a concentração mg/mL e absorvância (515 nm) para obtenção da equação da curva analítica de amostras de *C. obtusa*  $Y = - 0,0017X + 0,6269$  e coeficiente de correlação  $R^2 = 0,9951$ . A Figura 7 mostra a relação entre concentração mg/mL e absorvância (515 nm) para obtenção da equação da curva analítica de amostras de *C. palmata*  $Y = - 0,0012X + 0,6257$  e coeficiente de correlação  $R^2$  o coeficiente de correlação

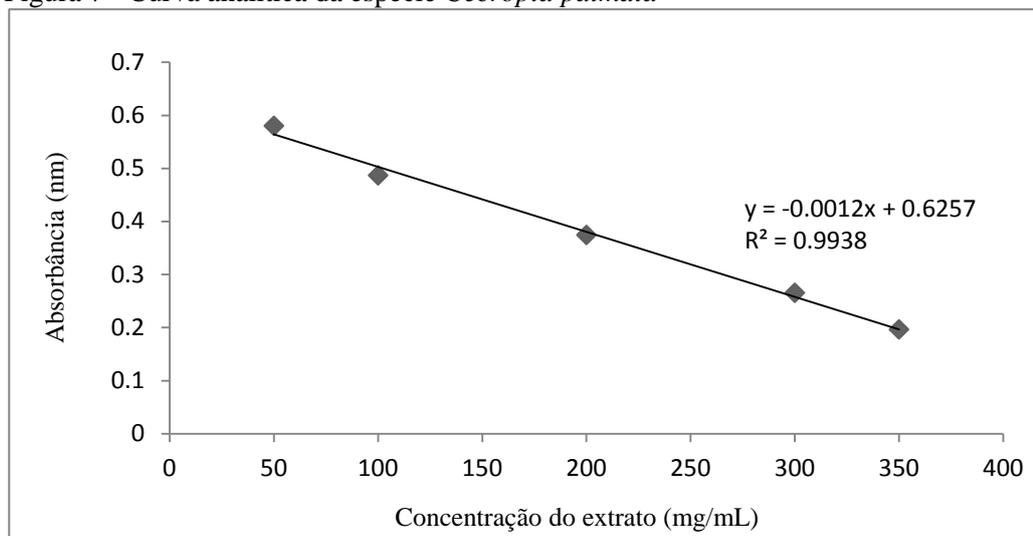
$R^2 = 0,9938$ , onde o Y é a absorbância medidas no comprimento de onda 515nm, e X corresponde à concentração do extrato.

Figura 6 - Curva analítica da espécie *Cecropia obtusa*



Fonte: Ramos, T. J. N.

Figura 7 - Curva analítica da espécie *Cecropia palmata*



Fonte: Ramos, T. J. N.

Os resultados foram dados através da percentagem de atividade antioxidante (%AA) que corresponde a quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante (amostra), e pela concentração eficiente ( $CE_{50}$ ), também chamada de concentração inibitória ( $CI_{50}$ ), que é a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (SOUSA et al., 2007).

Para o cálculo da concentração eficiente ( $CE_{50}$ ), das amostras de *C. obtusa* e *C. palmata*, foi utilizada a equação, obtida da curva analítica do DPPH onde y corresponde

metade da absorvância inicial do controle, o x corresponde consumo de DPPH, e as equações obtidas das diferentes diluições das amostras, onde x corresponde ao valor de CE<sub>50</sub> (RUFINO et al., 2007).

A percentagem de atividade antioxidante (%AA), ou atividade captadora de radical DPPH das concentrações de amostras testadas, no tempo de 30 min, foi determinada pela Equação 1:

$$\%AA = [(Abs_{\text{controle}} - Abs_{\text{amostra}})/Abs_{\text{controle}}] \times 100$$

onde Abs<sub>controle</sub> é a absorvância inicial da solução metanólica e Abs<sub>amostra</sub> é a absorvância da mistura reacional de DPPH e amostra (SOUSA et al., 2007).

### 2.3 Resultados e discussão

Os resultados das análises de teores de fenois totais, flavonoides e da quantidade de extrato de folhas de *C. obtusa* e *C. palmata*, necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (concentração eficiente CE<sub>50</sub>) encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Teores de fenois totais (mg de EA/g de amostra), flavonoides (mg de EQ/g de amostra) e concentração eficiente CE<sub>50</sub> (µg/mL) de amostra de folhas de *C. obtusa* e *C. palmata*.

Amostra	Fenois Totais	Flavonoides	CE <sub>50</sub>
<i>C. obtusa</i>	429,94 ± 23,04	62,652 ± 1,13	179,941
<i>C. palmata</i>	357,82 ± 10,57	54,014 ± 0,29	253,91

Fonte: Ramos, T. J. N

Esses resultados mostram que as amostras das duas espécies de *Cecropia* analisadas apresentam altos teores de fenólicos totais e flavonoides, comparados às dados da literatura para outras espécies de plantas (SOUSA et al., 2007; SILVA et al., 2012). Em *C. obtusa* os teores de fenois totais de 429,94 ± 23,04 miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg EAG/g de amostra), foram superiores aos de *C. palmata* 357,82 ± 10,57, como para os flavonoides, onde os teores observados em *C. obtusa* de 62,652 ± 1,13 mg de equivalente de quercetina por grama de amostra mg EQ/g de amostra, também superiores aos de *C. palmata* de 54,014 ± 0,29. Análises de fenois totais para outra espécie de *Cecropia* (ARAGÃO, 2009), foi observado em *C. pachystachya* valores de 326 ± 0,06 de mg de fenois/g de extrato equivalentes ao ácido tânico, e para flavonoides valores de 82,5 ± 0,23 mg de flavonóides /g de extrato equivalente à rutina, indicando que diferentes espécies de

*Cecropia*, apresentam resultados aproximados de fenóis e flavonoides.

Os resultados da concentração eficiente ( $CE_{50}$ ) mostrou menor valor para a espécie *C. obtusa*  $CE_{50} = 179,941 \mu\text{g/mL}$ , quando comparada com a *C. palmata* com valor de  $CE_{50} = 253,91 \mu\text{g/mL}$ . Esses resultados indicando que a *C. obtusa* apresenta maior atividade antioxidante do que a espécie *C. palmata*, visto que, o valor da concentração eficiente ( $CE_{50}$ ) visa dar parâmetros numéricos de quanto a planta é capaz de produzir substância antioxidante, assim como, verificar a eficiência da mesma frente à radicais livres como o DPPH, ou seja, quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, menor será a sua  $CE_{50}$ , e maior será a atividade antioxidante.

Os resultados da concentração eficiente  $CE_{50}$ , e da percentagem de atividade antioxidante (AA%) para duas espécies de *Cecropia* estudadas, podem estar relacionados à presença de compostos fenólicos e flavonóides quantificados neste trabalho. Para *C. obtusa*, foi observado maior consumo de DPPH e maior percentagem de atividade antioxidante e maior valores de fenóis totais e flavonóides quando comparados com *C. palmata*. Os resultados deste trabalho corroboram com os dados obtidos por outros autores, os quais correlacionam os teores de substâncias fenólicas e o potencial antioxidante de extratos vegetais (SOUSA 2007; ANDRADE et al., 2007, SILVA et al., 2012). Atividades antioxidantes em outras espécies de *Cecropia* têm sido relatadas. Em extrato metanólico de *C. pachystachya* a atividade antioxidante observada foi de  $CE_{50} 3,1 \mu\text{g/ML}$ . Essa atividade é atribuída segundo Aragão (2009), a presença de compostos bioativos. Resultados de estudos *in vitro* e *in vivo* da atividade antioxidante com diferentes frações de extrato de *C. glaziovii*, e fração n-butanol, foi observado que essas frações suprimiram efetivamente a indução de lipoperoxidação em três geradores de radicais livres testados (PETRONILO, 2004).

Em outras espécies de plantas, Sousa et al., (2007) ao analisarem os teores de fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais, concluíram que três espécies (*Terminalia brasiliense*, *Cenostigma macrophyllum* e *Copernicia cerifera*) apresentaram uma relação positiva entre o conteúdo de fenóis e a capacidade antioxidante, quando analisadas pelo método do DPPH.

A Tabela 2 mostra os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante (%AA) em amostras de folhas de *C. obtusa* e *C. palmata*. Os resultados foram obtidos através da Equação 1, calculados pela média de três repetições das absorbâncias da mistura reacional de DPPH e amostra de *C. obtusa* e *C. palmata*, nas concentrações 50, 100, 200, 300, 350 $\mu\text{g/mL}$  e absorbância do controle de 0,642 nm e tempo de reação 30 minutos.

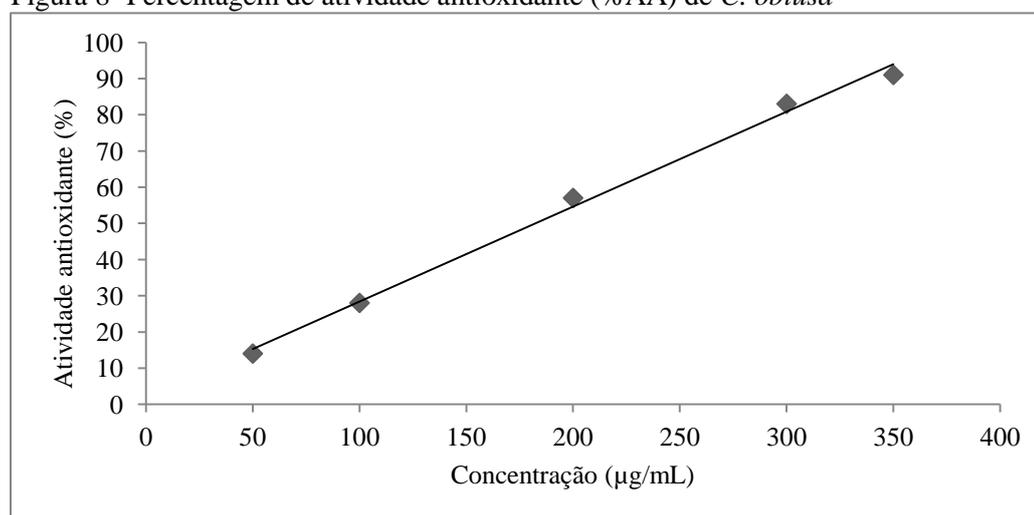
Tabela 2 - Percentagem de atividade antioxidante (%AA), de amostras de *C. obtusa* e *C. palmata*, determinada pela Equação 1.

Concentração	( <i>C. obtusa</i> )	( <i>C. palmata</i> )
50	14,22	9,7
100	28,03	24,30
200	57,3	41,74
300	83,02	60,0
350	91,12	69,41

Fonte: Ramos, T. J. N.

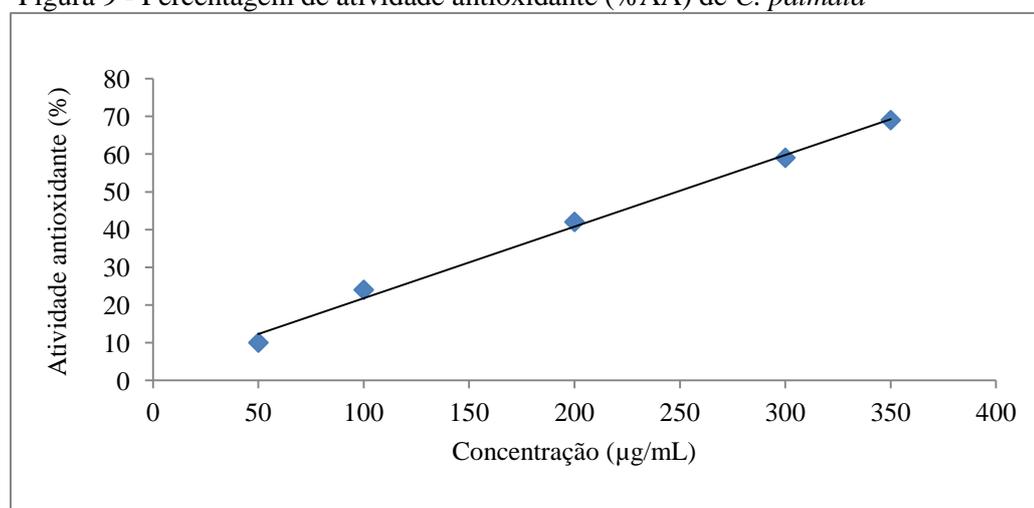
Os dados da avaliação da percentagem de atividade antioxidante (%AA) de amostras referentes à *C. obtusa* e *C. palmata* nas concentrações testadas (50, 100, 200, 300 e 350 µg/mL), estão apresentados nas Figuras 8 e 9.

Figura 8- Percentagem de atividade antioxidante (%AA) de *C. obtusa*



Fonte: Ramos, T. J. N.

Figura 9 - Percentagem de atividade antioxidante (%AA) de *C. palmata*



Fonte: Ramos, T. J. N.

Pelos dados, da Tabela 2 observa-se que as espécies estudadas têm atividade sequestradora do radical DPPH superiores a 60% nas concentrações de 300 µg/mL e 350 µg/mL. No entanto, para *C. obtusa* a percentagem de atividade antioxidante na concentração de 300 µg/mL foi de 83% , atingindo o máximo de atividade 91,12% na concentração de 350 µg/mL, enquanto que a *C. palmata* foi menos ativa, apresentando atividade e 350 µg/mL, com o máximo de atividade de 69,41%, onde se observa que *C. obtusa* apresenta maior percentual de atividade antioxidante, quando comparada com *C. palmata*.

## 2.4 Conclusão

*Cecropia palmata* e *Cecropia obtusa* apresentam potencial atividade antioxidante. No entanto, na espécie *C. obtusa*, os conteúdos de fenois totais e flavonoides foram superiores, o que provavelmente explica a maior atividade antioxidante apresentada por essa espécie em comparação a *C. palmata*.

Considerando que os fenois e flavonoides podem ser responsáveis pelo efeito de proteção à muitos processos patológicos, os resultados indicam que essas duas espécies de *Cecropia* são promissoras para o desenvolvimento de novos antioxidantes naturais.

## REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, D. M. O. *Perfil químico do extrato metanólico de Cecropia pachystachya e seu potencial hipoglicemiante em ratos diabéticos induzidos por aloxano*. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)- Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2009.
- ANDRADE, C. A.; COSTA, C. K.; BORA, K.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. GOMES; KERBER, V. A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A.Cunn. Ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 17, n. 2, p. 231-235, 2007.
- ANDRADE, C. C.; CARVALHO, J. L. S.; CUNICO, M. M.; LORDELLO, A. L. L.; HIGAAKINO, E. K.; ALMEIDA, S. C. C. DIAS, J. F. G. D.; KERBER, V. A. ; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Antioxidant and antibacterial activity of extracts, fractions and isolated substances from the flowers of *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciens*, São Paulo, v. 46, n. 4, 2010.
- BEHLING, E. B.; SEDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonóides quercetina: aspectos gerais e ação biológica. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v 15, n. 3 , p 285-292, 2004.(NÃO ESTÁ CITADO NO TEXTO)
- BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG. W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, Indianapolis, EUA, v. 90, p 157-177, 2001.
- BOSCOLO, O. H.; MENDONÇA-FILHO, R. F. W.; MENEZES, F. S.; SENNA-VALLE, L. Potencial antioxidante de algumas plantas de restinga citadas como medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, SP, v. 9, n. 1, p. 8-12, 2007.
- BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, Campinas, SP, v. 28, p. 25-30, 1995.
- CAI, Y. Z.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, USA, v. 74, n. 17, p. 2157-2184, 2004.
- COSTA, M. G.; ORTOMANN, F. C.; SCHENKEL, P. E.; REGINATTO, H. F. An HPLC-DAD Method to Quantification of Main Phenolic Compounds from Leaves of *Cecropia* Species. *Journal of the Brazilian Chemical Societe*, Campinas, SP, v. 00, p.1-7, 2011.
- GOMES, M. R., *Estudo químico dos extratos hexano e diclorometânico de folhas de Cecropia Obtusa* (Cecropiaceae) 119 f. 2003. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal do Pará, Belém, 2003.
- KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; FETT, R. Antioxidant capacity (ORACFL) of frozen fruits pulps. *Revista Nutrire*, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 53-64, 2006.

LIMA, A. R.; BARBOSA, V. C.; SANTOS, FILHO, P. R.; GOUVEIA, C. M. C. P. Avaliação *in vitro* da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de folhas de bardana. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, PB, v. 16, p. 531-536, 2006.

LUENGAS-CAICEDO, P. E.; BRAGA, F. C.; BRANDÃO, G. C., OLIVEIRA, A. B. Seasonal and intraspecific variation of flavonoids and proanthocyanidins in *Cecropia glaziovii* Sneth. Leaves from Native and Cultivated Specimens. *Naturforsch*, Alemanha, v. 62, p.701-709, 2007.

MARTINS, E. G. A.; PIRANI, J. R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Urticaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 161-173, 2010.

MILARDOVIC, S.; IVEKOVIC, D.; GRABARIC, B. S.; A novel amperometric method for antioxidante activit determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, Amsterdam, v. 68, p.175-180, 2006.

PETRONILHO, F. C. *Avaliação da atividade antioxidante de Cecropia glazioui Sneth*. 2004. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) - Universidade do Extremo Sul de Santa Catarina. Criciúma, 2004.

RIO, R. G. W. *Métodos de controle químico de amostras de própolis*. 72 f. 1996. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

ROSA, E. A.; SILVA, B. C.; SILVA, F. M.; TANACA, C. M. A.; PERALTA, R. M.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; FERREIRA, H. D.; SILVA, C. C. Flavonóides e atividade antioxidante em *Palicourea rígida*, Rubiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 18, n. 3, p. 331-338, 2008.

RUFINO, M. S.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. *Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH*. Fortaleza CE: Embrapa Agroindustrial Tropical, 2007. (Comunicado Técnico, 127).

SINGLETON, V. S.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolis with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Journal of Food Composition and Analysis*, San Diego, v. 19, n.3, p. 144-158, 1965.

SILVA, J. M.; MOTTA, E. V. S.; MENDES, R. F.; SCIO, E. Caracterização fitoquímica, teor de fenóis e flavonóides e avaliação da capacidade antioxidante da folha de *Lacistema pubescens* mart. *HU Revista*, Juiz de Fora, v. 37, n. 3, p. 347-352, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAM, G.; MELLO, J. C. P.; ENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5 ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R. S.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

STANGE, V. S.; GOMES, T. D. U. H.; ANDRADE, M. A.; BATITUCCI, M. C. P. Avaliação do efeito mutagênico do extrato hidroalcoólico bruto, por meio de bioensaio *in vivo* e prospecção fitoquímica de *Cecropia glaziovii* Sneth (embaúba), Cecropiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 2b, 2009.

TANAE, M. M, LIMA-LANDMAN, M. T. R.; LIMA, T. C. M., SOUCCAR, C.; LAPA, A. J. Chemical standardization of the aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth endowed with antihypertensive, bronchodilator, antacid secretion and antidepressant-like activities. *Phytomedicine*, Philadelphia, USA, v. 14, p 309-313, 2007.

ZUANAZZI, J. A. S; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÃO, S. M. O. SCHENKEL, E. P. GORMANN, G. MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PERSOVICK, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: UFGS, 2003. p. 577-614.

### **3 CAPITULO II - DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL NA MATÉRIA SECA E CHÁS DE FOLHAS *Cecropia palmata* Willd. E *Cecropia obtusa* Trécul. (Cecropiaceae) EM DIFERENTES SAZONALIDADES**

**RESUMO:** Os minerais são elementos essenciais para nutrição humana, desempenhando funções específicas no organismo. A concentração de minerais em plantas pode estar associada a vários fatores, entre eles a espécie e o ambiente onde são cultivadas. Raros são os estudos sobre nutrientes minerais em *Cecropia*. Neste estudo, foram avaliadas as concentrações dos minerais cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, sódio, manganês e zinco, na matéria seca e chás de folhas de *Cecropia palmata* e *Cecropia obtusa* obtidas em diferentes sazonalidades. As amostras foram analisadas por espectrometria de emissão atômica. Os dados foram analisados por métodos quimiométricos explanatório, componentes principais e hierárquico. Os resultados mostram que a interação entre a época de coleta e as espécies vegetais interfere na concentração da maioria dos minerais analisados, e que as espécies *Cecropia obtusa* e *Cecropia palmata* obtidas no período de maior precipitação pluviométrica, apresentam maior similaridade em relação aos teores das variáveis: cálcio, cobre e manganês. A concentração dos minerais foi reduzida nos chás em relação à matéria seca, sugerindo que o uso de uma xícara de chá por dia, conforme metodologia utilizada possa ser uma possível fonte de minerais sem risco de toxidez, visto que não ultrapassaram o limite máximo tolerável estabelecido pela Organização Mundial de Saúde.

**Palavras-chave:** Embaúba. Plantas Mediciniais. Sazonalidade.

### **3 CHAPTER II - DETERMINATION OF THE MINERAL COMPOSITION AND TEAS MATTER DRY LEAVES *Cecropia palmata* Willd. And *Cecropia obtuse* Trécul. (Cecropiaceae) IN DIFFERENT SEASONAL PERIODS**

**ABSTRACT:** The minerals are essential to human nutrition, specific role in the body. The mineral concentrations in plants can be associated with various factors including the species and the environment where they are grown. Few studies on mineral nutrients in *Cecropia*. In this study, we evaluated the concentrations of minerals in the dry matter and leaf teas *Cecropia palmata* and *Cecropia obtusa* in different seasonal periods. The samples were analyzed by atomic emission spectrometry. Data were analyzed by chemometric methods explanatory: principal components and hierarchical. The results show that the interaction between the season and plant species interferes with the concentration of most minerals analyzed, and that species *Cecropia obtusa* and *Cecropia palmata* obtained during the rainy season had higher similarity in relation to the contents of the variables: calcium, copper and manganese. The concentration of minerals was reduced in teas in the dry matter, suggesting that the use of a cup of tea per day, according to the methodology used can be a possible source of minerals without risk of toxicity as it did not exceed the tolerable upper limit set by World Health Organization.

**Keywords:** Embauba. Metals. Medicinal Plants. Seasonal.

### 3.1 Introdução

*Cecropia* é um gênero característico da Flora Neotropical formado por cerca de 70 espécies distribuídas por toda América Latina, incluindo o Brasil. São plantas pioneiras na regeneração natural de áreas degradadas, onde fazem parte da vegetação que se estabelece inicialmente nessas áreas em muitas regiões tropicais (RIBEIRO, 2010; DI STASI; HIRUDALIMA, 2002).

A ação terapêutica de várias espécies de *Cecropia* é conhecida há muito tempo pela população mais simples e atualmente vem recebendo atenção com pesquisas científicas, confirmando muitas das suas propriedades medicinais no tratamento da tosse, bronquite, pressão alta, inflamação e problemas cardíacos. Entre as espécies mais estudadas encontram-se: *C. glaziovii* (TANAE et al., 2007), *C. peltata* (ROJAS et al., 2006) e *C. pachystachya* (DI STASI et al., 2002). Entretanto, raros são os estudos sobre as propriedades químicas e medicinais das espécies *C. palmata* e *C. obtusa* encontradas na Amazônia.

Estudo de plantas medicinais a época de coleta da planta é um dos fatores de maior importância para sua análise, visto que a quantidade e até mesmo a natureza dos constituintes ativos não são constantes durante o ano. Apesar da existência de um controle genético para as plantas, a expressão genética pode sofrer modificações resultantes das interações de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (LEITE, 2009). No estudo de plantas medicinais, deve-se estar atento para questões como origem, luminosidade, regime de chuvas, crescimento e desenvolvimento da planta (LEITE, 2009). Estudos mostram que a concentração de minerais em plantas pode estar associada a vários fatores, entre eles, a espécie, variedade genética, idade, parte do tecido vegetal e o ambiente onde são cultivadas (ERNEST, 2002).

Os minerais são elementos essenciais para nutrição humana, desempenhando funções específicas no organismo. Desse modo, o consumo regular de minerais pode contribuir para suprir algumas necessidades essenciais do organismo humano (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2005). Os minerais são elementos inorgânicos que servem para uma série de funções, atuando como cofatores em várias reações enzimáticas, na regulação do equilíbrio ácido-básico, na condução nervosa, irritabilidade muscular e como elementos estruturais no corpo (CHAMPE; HARVEY, 1996). Os minerais contribuem para o equilíbrio do organismo, no entanto, em excesso podem causar alguns distúrbios (CHAMPE; HARVEY, 1996; OLGA, 2003).

Alguns elementos minerais são encontrados em quantidades relativamente baixas no corpo humano e são chamados oligoelementos, como é o caso do zinco (Zn), ferro (Fe), cobalto (Co), manganês (Mn), níquel (Ni) e flúor (F).

O zinco e o manganês servem como ativadores essenciais em uma série de reações enzimáticas, atuando como cofatores, sendo importantes para reprodução e crescimento. O cálcio e o fósforo são os minerais mais abundantes no organismo são considerados como macronutrientes atuando na formação de ossos, dentes e tecidos. O cálcio realiza funções importantes na contração muscular transmissão dos impulsos nervosos, transporte iônico e transmissão de sinais através das membranas (CHAMPE; HARVEY, 1996). Segundo a Organização Mundial de Saúde, as necessidades diárias recomendadas para o cálcio são de 500mg dia<sup>-1</sup>, para satisfazer os requisitos de quase todos (97-98%) os indivíduos saudáveis.

O potássio quando associado ao sódio, funcionam na regulação do pH, Segundo a Organização Mundial de Saúde as concentrações diárias recomendadas para o sódio é de 500mg dia<sup>-1</sup>, e para o potássio são de 2.000 mg dia<sup>-1</sup> (MAHAN; SCOTT-STUMP, 2005). O ferro é um componente das moléculas hemoglobina, mioglobina e citocromos e faz parte de alguns sistemas enzimáticos, desempenhando um papel essencial no transporte de oxigênio e respiração celular (HARPER; RODELF; MAYES, 1982; CHAMPE; HARVEY, 1996; OLGA, 2003). Segundo a Organização Mundial de Saúde as concentrações diárias recomendadas para o ferro são de 20mg dia<sup>-1</sup> (MAHAN; SCOTT-STUMP, 2005).

A caracterização de minerais em plantas medicinais ao longo dos últimos anos têm sido intensificada (ALMEIDA et al., 2002; MARTINS et al., 2009; SAIDELLES et al., 2010; AMARANTES et al., 2011; FRANCO et al., 2011), no entanto, nenhuma referência foi encontrada sobre os teores de minerais nas diferentes espécies de *Cecropia*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição mineral na matéria seca e no chás de folhas de *Cecropia palmata* e *Cecropia obtusa* em diferentes sazonalidades e certificar as propriedades nutricionais minerais dos chás produzidos por essas duas espécies de embaúba.

## 3.2 Material e métodos

### 3.2.1 Coleta e identificação do material botânico

Foram utilizadas amostras de folhas das espécies *Cecropia palmata* Willd e *Cecropia obtusa* Trécul. As coletas foram realizadas nos meses de setembro de 2010, menor

precipitação (período sem chuva), e fevereiro de 2011, considerado de maior precipitação (período chuvoso), no horário entre 8:30h e 10:00h. As folhas foram colhidas de diferentes galhos de árvore adulta com altura entre 8 a 10 metros, desenvolvidas sem adubação química. As folhas de *C. obtusa* foram coletadas no horto de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Oriental - Belém PA. (1°26'30" S; 48° 27'0"W) e de *C. palmata* em área denominada Capoeira do Black também na Embrapa, localizada a 1°26'2"58S de latitude e 48°26'34.39W de longitude. As espécies *Cecropia obtusa* e *Cecropia palmata* foram identificadas no Laboratório de Botânica da Embrapa Amazônia Oriental Belém PA, sob a responsabilidade da Dra. Silvana Tavares Rodrigues. As exsiccatas depositadas no Herbário deste Laboratório sob os números IAN185555 e IAN185556, respectivamente.

### 3.2.2 Determinação do peso seco total

A determinação do peso seco das amostras foi realizada no Laboratório de Agroindústria da Embrapa, Belém-PA. As folhas foram separadas por espécie, lavadas em água corrente, cortadas, pesadas, colocadas em bandejas de inox e levada à estufa de secagem e circulação mecânica (FANEM 320-SE), à temperatura de 45°C por cinco dias. Após, as amostras foram pesadas, trituradas e acondicionadas em sacos plásticos identificados e guardados em geladeira à temperatura de 10°C até o uso.

### 3.2.3 Preparação das infusões (chás)

Para o preparo das infusões (chás), foram utilizadas folhas secas pulverizadas das duas espécies coletadas nos períodos considerados. Os chás foram preparados pesando-se 1g de amostra em um erlenmeyer de 50 mL. Em seguida adicionou-se 25mL de água deionizada (Milli Q, Millipore) em ebulição e tapou-se para diminuir as perdas de água por evaporação. Após 10 minutos, filtrou-se para balão de 50 mL, adicionou-se 0,5 mL de ácido nítrico concentrado, e completou-se o volume de 50 mL com água deionizada. Para eliminar algum tipo de precipitado que pudesse interferir no instrumento de análise, fez-se uma centrifugação com o tempo de 5 minutos e 2000 rpm (DSC-16, PRESVAC), o sobrenadante foi retirado para tubos cônicos, completando-se o volume final de 50mL com água deionizada.

### 3.2.4 Digestão das amostras secas

Em tubos de Teflon para microondas pesou-se  $0,25 \pm 0,05$  g da matéria seca, adicionou-se em cada tubo 5mL de ácido nítrico concentrado, fechou-se os tubos e deixou-se em repouso por 24h. Após, adicionou-se 1mL de  $H_2O_2$  (30% v/v) e deixou-se em repouso por 1h. As amostras foram digeridas em forno microondas modelo MARSXpress -CEM, Inc. onde foram utilizadas as seguintes etapas: 1<sup>a</sup> etapa: potência de 800W por 5 min; 2<sup>a</sup> etapa: potência de 800W por 2 min; 3<sup>a</sup> etapa: potência de 400W por 2 min e 4<sup>a</sup> etapa: potência de 1600W por 3min. Completada a digestão, o material foi filtrado para tubos cônicos e o volume final ajustado para 50 mL com água deionizada. Para avaliação da exatidão do método, foram utilizados como material de referência certificado (SRM 1573a - *tomato leaves*), *National Institute of Standards & Technologg* (NIST, USA), e GBW 07601 Poplar Leaves Made in China, submetidos simultaneamente ao mesmo processo de abertura das amostras de matéria seca, e os brancos analíticos preparados pelo mesmo procedimento sem adição de amostras.

### 3.2.5 Instrumentos e Acessórios

A determinação dos minerais Ca, Cu, K, Mg, Mn, Na e Zn na matéria seca (folhas) e infusão (chá) de *C. palmata* e *C. obtusa* e material de referência (SRM), foram efetuadas utilizando um espectrofotômetro de emissão atômica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP OES) (Vista-MPX, Varian Inc.). Para análise do Fe, foi utilizado o espectrômetro de Emissão Atômica, Spectr AA 220 Atomic Absorption Spectrometer modelo Varian AAS com fluxo de gás acetileno. Os parâmetros operacionais estabelecidos para análises dos minerais foram pelo ICP OES: comprimentos de ondas para o Ca (496,847 nm), Cu (327,395 nm), K (766,491nm), Mg (279,553nm), Mn (257,610nm), Na (588,995nm) e Zn (213,857 nm), com vazões otimizadas de argônio de  $0,60 \text{ Lmin}^{-1}$  para o gás nebulizador,  $1,5 \text{ Lmin}^{-1}$  para o gás auxiliar e  $15 \text{ Lmin}^{-1}$  para o gás principal, com o emprego de potência de radiofrequência 1100 W . E os parâmetros para o Fe pelo AAS, foram comprimento de onda de 238,2 nm e chama de gás ar/acetileno. As análises foram realizadas no Laboratório de Toxicologia da Seção de Meio Ambiente do Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará.

### 3.2.6 Reagente, soluções e material de referência

Todos os reagentes foram de alto grau de pureza (Suprapur<sup>®</sup>) e as soluções preparadas usando-se água deionizada obtida em sistema de ultrapurificação de água Milli-Q, Millipore<sup>®</sup>. As soluções estoques contendo 1000 mgL<sup>-1</sup> Fe, Zn, Cu, Mn, K, Ca, Mg, Na e K em 5,0 % de HNO<sub>3</sub>, foram devidamente diluídas obtendo as soluções de referência. Para a calibração do ICP- OES, as soluções de referência foram preparadas com concentrações na faixa variando de 0,2 a 5,0 mgL<sup>-1</sup>, para o Zn, Cu e Mn, e 0,1 a 0,8 mgL<sup>-1</sup> para o Fe, Ca, Mg, Na e K, preparadas através da diluição sucessiva de solução estoque 1000mgL<sup>-1</sup> (Merck). Como material de referência certificado foi utilizado SRM 1573<sup>a</sup> - *tomato leaves* (NIST,USA). Para o Fe foi utilizado como material de referência GBW 07601 Poplar Leaves Made in China.

### 3.2.7 Análise e estatística dos dados

A concentração total dos minerais na matéria seca e chás foi expressa como Média ± DP (Desvio Padrão) e os dados obtidos submetidos à métodos quimiométricos explanatórios componentes principais (PCA) usando o gráfico biplot que representa no mesmo gráfico as relações entre as variáveis e amostras, e análise hierárquica de grupamento (HCA) que agrupa as observações por similaridade, através do método de Ward mostrada por dendograma. Para análises dos dados foram utilizados o programa MINITAB.

## 3.3 Resultados e discussão

Os parâmetros analíticos usados para a validação do método e assegurar a confiabilidade dos resultados das análises foram as equações das curvas de calibração pela análise de mínimos quadrados e seu respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ), limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), calculados a partir de 10 leituras do branco analítico apresentados na Tabela 3. Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) mostraram que as curvas analíticas obtidas apresentaram boa linearidade com valores superior a 0,9995. Os limites de detecção e de quantificação permitem a determinação dos analitos na matéria seca e nas infusões com exatidão e precisão.

Tabela 3 - Dados relativos a curvas de calibração de minerais em HNO<sub>3</sub>, 1% (v/v) e limiares analíticos.

Mineral	Faixa Linear (mg.L <sup>-1</sup> )	Equação da curva analítica	R <sup>2</sup>	LD (µg.L <sup>-1</sup> )	LQ (µg.L <sup>-1</sup> )
Ca	0 – 3,2	Y=364598x + 33560	0,9986	3,005	9,015
Cu	0 – 3,2	Y=3757,2x + 60,07	0,9999	1,045	3,135
K	0 – 3,2	Y=32890x + 814,49	0,9997	0,847	2,541
Fe	0 – 3,2	Y= 0,0167x – 0,0018	0,9994	2,001	6,033
Mg	0 – 3,2	Y=74653x – 1314,6	0,9998	0,854	2,562
Mn	0 – 3,2	Y=34446x – 18,331	0,9999	0,857	2,571
Na	0 – 3,2	Y=203720x +2213,2	0,9987	0,985	2,955
Zn	0 – 3,2	Y=3300,9x + 34,889	0,9999	0,820	2,460

Y= Intensidade; x= concentração do analito; R<sup>2</sup>= Coeficiente de determinação; LD= Limite de Detecção; LQ = Limite de Quantificação.

**Fonte:**Ramos, T. J. N.

Na análise do material certificado, os valores de recuperações situaram-se próximos a 100%. Ou seja: Ca 108,3%, Cu 80,4%, K 105,1%, Fe 94,89%, Mg 100,2%, Mn 89,9%, Na 91,14% e Zn 92,2%, mostrando boa exatidão da metodologia proposta.

Alguns minerais normalmente estão presentes em alimentos em baixas concentrações, como Fe, Cu, Zn, e são avaliados nutricionalmente como micronutrientes essenciais para saúde humana. Estes elementos são necessários em pequenas quantidades, cerca de 15mg/dia ou menos, podendo ser tóxicos em altas concentrações. Outros, como o Na, Ca, Mg e K são macronutrientes e necessários em maiores quantidades cerca de 100mg/dia (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2005) .

Os resultados das concentrações dos minerais da matéria seca das folhas e infusões (chás) de *C. palmata* e *C. obtusa* obtidas em períodos seco e chuvoso, estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Teores médios ( $\text{mgkg}^{-1}$ ) ( $m=3$ ) e desvio padrão de minerais da matéria seca (MS) e chás de folhas de *C. obtusa* e *C. palmata* em períodos de menor precipitação (seco) e maior precipitação (chuvoso)

Minerais	Amostra	<i>C. obtusa</i>		<i>C. palmata</i>	
		Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
Ca	MS	5427,63±369,06	7302,67±560,21	4813,90±274,82	5751,03±548,54
	Chá	7,07±1,47	48,70±12,32	24,36±3,02	25,96±11,72
Cu	MS	6,08±0,78	8,31±1,59	6,69±1,12	7,82±1,13
	Chá	0,05±0,03	0,14±0,02	0,07±0,01	0,12±0,05
Fe	MS	99,63±2,35	89,54±45,82	96,84±11,39	96,51±16,07
	Chá	0,35±0,08	0,33±0,01	2,0±0,00	2,0±0,00
K	MS	9388,74±612,86	8384,98±621,63	8643,12±406,63	5025,58±440,32
	Chá	28,69±4,33	189,57±35,12	171,63±6,44	172,04±51,32
Mg	MS	1001,18±85	868,67±58,06	1308,79±84,34	1063,90±90,46
	Chá	1,86±0,44	17,43±1,46	13,88±0,19	12,81±5,12
Na	MS	366,23±28,73	243,13±40,52	258,52±25,96	590,00±57,99
	Chá	7,86±0,81	13,32±6,30	12,12±3,51	8,60±1,06
Mn	MS	3,06±0,13	46,79±1,00	43,60±6,18	100,36±22,80
	Chá	0,06±0,02	0,48±0,18	0,24±0,06	0,30±0,11
Zn	MS	19,56±10,09	22,53±3,49	20,50±7,22	20,52±12,12
	Chá	0,14±0,02	0,38±0,16	0,45±0,10	0,37±0,14

Fonte: Ramos, T. J. N.

Na análise dos nutrientes Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Mn e Zn da matéria seca das duas espécies de *Cecropia*, observou-se concentrações relativamente altas dos macronutrientes Ca, K, Mg e Na, considerados essenciais para a nutrição, em concordância com aqueles observados em outros trabalhos descritos para determinação de minerais em plantas (MARTINS et al., 2009, SAIDELLES et al., 2010, AMARANTES et al., 2011).

Comparando-se os resultados da Tabela 4 das concentrações dos minerais da matéria seca de *C. obtusa* e *C. palmata* nos períodos de menor precipitação (seco) e maior precipitação (chuvoso), observa-se que em ambas as espécies obtidas no período de maior precipitação (chuvoso), as concentrações de Ca, Cu e Mn, aumentaram. Além do aumento desses minerais nas duas espécies, observa-se que o Zn aumentou em *C. obtusa* e o Na em *C. palmata* nesse mesmo período.

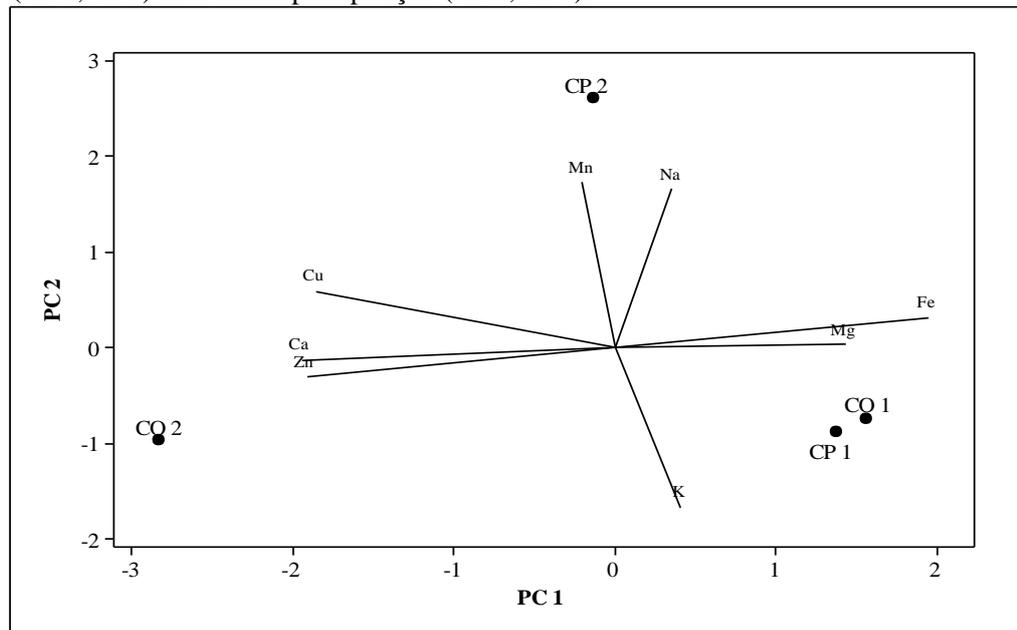
Nas plantas obtidas no período de menor precipitação (seco), observa-se o aumento das concentrações de Fe, K e Mg para as ambas espécies de *Cecropia*. Para o Na, as concentrações aumentaram em *C. obtusa*, enquanto que a concentração do Zn praticamente não variou com a sazonalidade para a espécie *Cecropia palmata*. Assim as diferenças

encontradas nos resultados podem estar relacionadas, além da sazonalidade, com a própria espécie de planta estudada.

Estudos de Payn e Clough (1987), indicam que, o fator sazonalidade pode ser uma das maiores fontes de variação de metais nas plantas, e segundo Vilela e Lacerda (1992), a variação sazonal na concentração dos elementos minerais em folhas está fortemente relacionada aos mecanismos de absorção e de retranslocação. Estudos de Luizão (2007), sobre o ciclo de nutrientes na Amazônia em respostas as mudanças ambientais e climáticas, indicam que as concentrações dos minerais em folhas podem estar relacionadas às condições geoclimáticas, e que as chuvas (deposição úmida) e os aerossóis (deposição seca) representam entradas importantes de alguns dos nutrientes essenciais para as plantas da Amazônia, e a importância relativa dessas fontes pode variar de um nutriente para outro. Vários estudos sobre nutrientes minerais indicam que a dinâmica desses elementos nas plantas varia em função de alguns fatores, entre eles, a espécie, idade fenológica, condições edafocimáticas, práticas de manejo adotadas e conteúdo de nutrientes na solução do solo (LIMA et al., 2008 , MENDES et al., 2012).

Para descrever a similaridade e as correlações entre variáveis (minerais), entre as observações (amostras) e entre variáveis e observações, os dados das análises químicas de *C. obtusa* e *C. palmata* em diferentes sazonalidades foram submetidas ao PCA e HCA.

Figura10 - Relação entre variáveis (minerais) e espécies de *Cecropia* obtidas em períodos menor precipitação (CO1, CP1) e de maior precipitação (CO2, CP2).



Fonte: Ramos, T.J.N.

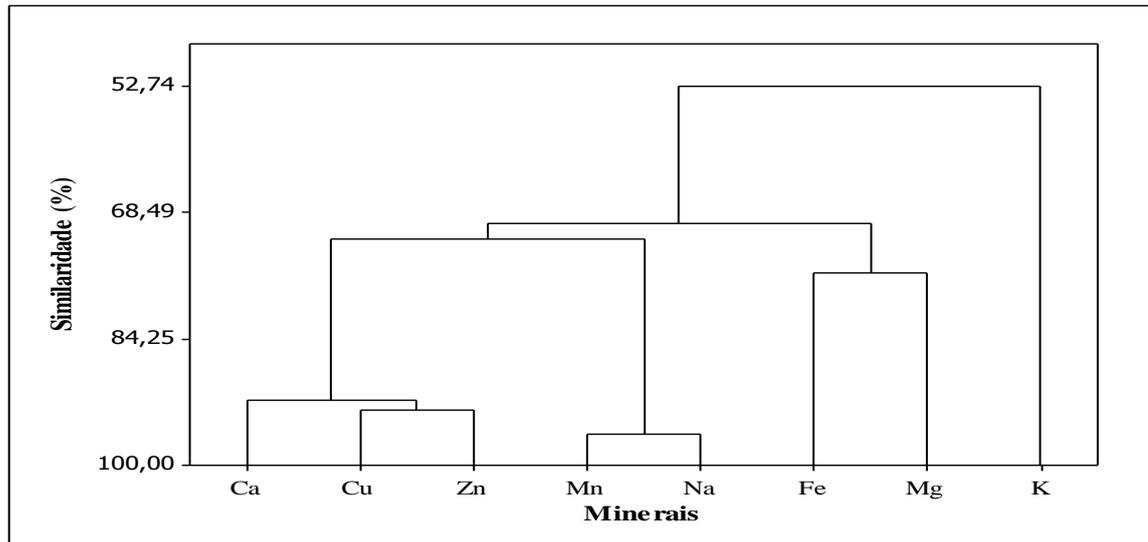
A Figura 10 mostra a representação gráfica (biplot), das componentes principais (PCA), cuja característica principal é o comportamento dos minerais nas diferentes espécies de *Cecropia* de acordo com a sazonalidade. A PCA dividiu os dados em quadrantes I, II, III IV para as duas componentes ( $PC_1$  e  $PC_2$ ). A primeira componente principal ( $PC_1$ ) que é a combinação linear de máxima variância evidenciou 58,58% dos resultados e detém mais informações estatísticas que a componente secundária ( $PC_2$ ), que evidenciou 23,86%.

No gráfico, observa-se uma mudança na distribuição entre os quadrantes para as variáveis Ca, Cu, Zn, Mn, Na, K, Mg e Fe, em amostras de *C. obtusa* e *C. palmata* obtidas nos períodos de menor precipitação (seco) e maior precipitação (chuvoso) (CO1, CO2 e CP1, CP2).

No quadrante I da PCA, encontram-se o Mg, Fe e Na com correlações positivas às componentes  $PC_1$  e  $PC_2$ . No quadrante II encontram-se a *C. palmata* obtida no período de maior precipitação (chuvoso) (CP2), e as variáveis relacionadas às concentrações de Mn, Cu e Ca, com correlações negativas com a  $PC_1$  e positivas com a  $PC_2$ . No quadrante III, a *C. obtusa* obtida no período de maior precipitação (chuvoso) (CO2), onde o Zn têm correlação negativa com a  $PC_1$  e  $PC_2$ . No quadrante IV, a *C. palmata* e *C. obtusa*, obtidas no período de menor precipitação (seco) (CO1 e CP1) e o K com correlação positiva com  $PC_1$ , e negativa com a  $PC_2$ .

A formação de grupos de similaridade entre os minerais de acordo com a sazonalidade e as espécies de plantas estudadas pode ser visualizada através do dendrograma Figura 11.

Figura 11 - Dendrograma de dados relativos às variáveis (minerais) de *Cecropia* obtidas em diferentes períodos sazonais.



Fonte: Ramos, T. J. N.

Os resultados da análise hierárquica de grupamentos (Figura 11) revelam mais detalhadamente a similaridade entre os minerais nas espécies de *C. obtusa* e *C. palmata* obtidas em períodos de menor precipitação (seco) e maior precipitação (chuvoso). A interpretação é que quanto menor a distância entre os pontos, maior a similaridade entre as variáveis.

No dendrograma, os grupos formados pela similaridade foram: Grupo 1, com 91,92% de similaridade, formado pelos minerais Ca, Cu e Zn com maiores concentrações no período de maior precipitação (chuvoso) para as duas espécies *C. palmata* (CP2) e *C. obtusa* (CO2); Grupo 2, apresentado maior similaridade 96,21%, formado pelos elementos Na e Mn, com maiores concentrações no período de maior precipitação (chuvoso) para *C. palmata* (CP2); Grupo 3, com similaridade de 69,81%, formado pelos metais Fe e Mg, com maiores concentrações no período de menor precipitação (seco) para as duas espécies (CO1 e CP1). O mineral K apesar de apresentar um comportamento distinto dos demais, possui similaridade de 52,74%, com o Fe e Mg, com maiores concentrações para as duas espécies no período de menor precipitação (seco).

Esses resultados mostram que a interação entre época do ano (sazonalidade) e a espécie vegetal interfere na concentração da maioria dos minerais analisados na matéria seca das folhas das duas espécies de *Cecropia*. Segundo Berlini et al., (2010); Cuzzuol et al., 2001,

nem sempre se consegue encontrar um padrão sazonal claro na concentração de nutrientes minerais em folhas de plantas, demonstrando a complexidade na interação de dados em um ambiente onde fatores ambientais interagem de forma sinérgica e antagônica. Segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), nas plantas apesar da existência de um controle genético, a expressão pode sofrer modificação, portanto a síntese de metabólitos secundários em plantas medicinais pode ser afetada por condições ambientais tais como sazonalidade, temperatura, altitude.

A Tabela 5 mostra a concentração de minerais calculados para uma xícara de chá padrão (200mL) a partir das concentrações obtidas nas infusões em  $\text{mgKg}^{-1}$  de folhas de *C. palmata* e *C. obtusa*, em períodos de menor precipitação (seco) e maior precipitação (chuvoso), e a sua comparação com os valores de referência conforme a Organização Mundial de Saúde

Tabela 5 - Concentrações de minerais ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) em uma xícara de chá padrão (200 mL) de duas espécies de *Cecropia*, obtidas em diferentes sazonalidades e a comparação com os valores de referência.

Metal	<i>C. obtusa</i>		<i>C. palmata</i>		WHO* mg/dia	RDA** mg/dia	UL*** mg/dia
	Menos Seco	Chuvoso	Menos Seco	Chuvoso			
Ca	28,28±5,86	194,81±49,26	97,43±12,10	103,84±46,89	500	1200	3000
Cu	0,20±0,13	0,57±0,06	0,28±0,04	1,48±0,18	2	2	10
Fe	0,20±0,04	0,14±0,06	ND	ND	20	15	45
K	114,74±17,30	758,28±140,48	686,50±25,74	688,16±20,53		2000	
Mg	7,45±1,78	69,72±5,85	55,52±0,75	51,24±20,50	300	350	1200
Na	31,44±3,25	53,28±25,20	48,46±14,02	34,4±4,23		500	
Mn	0,24±0,08	1,92±0,70	0,97±0,22	1,22±0,43	3	5	11
Zn	0,56±0,06	1,52±0,66	1,80±0,42	1,48±0,57	15	15	45

\*(WHO)-World Health Organization; \*(RDA)-Recommended Dietary Allowances; \*\*\*(UL)-Tolerable Upper Intake Level; ND - (Não detectado).

Fonte: Ramos, T. J. N.

Comparando-se as Tabelas 4 e 5, observa-se que pelo processo de infusão das folhas das espécies de *Cecropia*, as concentrações dos minerais da matéria seca em relação às dos chás, como era de se esperar, ocorreu com reduzida transferência. Essa diminuição faz com que a ingestão dessa forma farmacêutica, tradicionalmente utilizada pela população, não seja atóxica em relação a concentração dos minerais estudados. Não foi detectada presença de Fe nos chás da espécie *C. palmata* nos dois períodos.

Esses resultados foram avaliados dentro os limites considerados seguros para o consumo humano. Para isso foram calculadas as concentrações desses minerais contidas em uma xícara de chá padrão de 200 mL e consumida por dia (Tabela 5). Levando-se em consideração que nas análises realizadas no preparo do chá de cada espécie de *Cecropia*, 1 g de massa seca de folhas foi utilizada para um volume final de 50 mL de água, estima-se que, se uma xícara de chá padrão for ingerida ao dia, 4 g de folhas e *Cecropia* serão consumidas.

Os valores dos teores médios calculados para o Ca, Cu, K, Na, Fe, Zn, Mg para uma xícara de chá padrão (200 mL) nos dois períodos de coletas foram comparados com os de referência: (WHO) *World Health Organization* (1996), necessidade diária recomendada pela Organização Mundial de Saúde, (RDA) *Recommended Dietary Allowance* (1989), definida como a quantidade de um nutriente necessária para atender as necessidades de quase toda (97 a 98%) a população saudável de indivíduos para quais ela foi desenvolvida e (UL) *Tolerable Upper Intake Level* (2005), definido como o limite máximo de ingestão diária de um nutriente com pouca probabilidade de causar quaisquer efeitos adversos nos membros mais sensível de uma população saudável (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2005). Os resultados encontrados em uma xícara de chá para as duas espécies de *Cecropia* obtidas em dois períodos de coletas, evidenciam que, apesar da matéria seca das folhas conter níveis considerados altos para a maioria dos minerais, pelo processo de infusão, ocorreu uma grande redução das concentrações desses minerais para os chás, sugerindo que o uso de uma xícara de chá por dia das plantas avaliadas, conforme metodologia empregada nesse trabalho, possa ser utilizada como uma possível fonte de minerais sem risco de toxidez, visto que os teores encontrados nessas duas espécies de plantas nos dois períodos não ultrapassam o limite máximo tolerável (UL). Segundo Maiga (2005), a composição química elementar de um alimento é uma indicação significativa de seu valor nutritivo, contudo, as concentrações ingeridas não são totalmente absorvidas, ou seja, existe uma biodisponibilidade que depende da forma como o mineral está disponível para ser absorvido.

A maioria dos minerais encontrados presentes nos chás das duas espécies de *Cecropia* são aqueles encontrados também em chás de outras plantas consideradas como medicinais da Amazônia como: *Montrichardia linifera* (AMARANTES et al., 2011) e *Mikania linjdleyan* (MARTINS et al., 2009). No entanto, estudos futuros são necessários para que se obtenham informações além do valor nutricional o potencial terapêutico das espécies *C. palmata* e *C. obtusa*, como contribuição para o uso tradicional com segurança e eficácia para a saúde.

### 3.4 Conclusão

Os métodos de PCA e HCA foram úteis para mostrar a similaridade entre variáveis nas espécies de *Cecropia* estudadas e épocas de coletas (sazonalidade), com a formação de grupos em relação a suas concentrações. No período de maior precipitação (chuvoso) ocorreu maior similaridade de Ca, Cu e Mn para duas espécies. Independente do período de chuva, alguns minerais tiveram suas concentrações aumentadas nas diferentes espécies de *Cecropia* estudada.

Dentre os limites considerados seguros para o consumo humano, o uso de uma xícara de chá/dia das espécies de *Cecropia* estudadas, poderá ser usada, como uma possível fonte de minerais sem risco de toxidez mineral no que se refere a concentração de Ca, Cu, K, Na, Fe, Zn e Mg, visto que os teores encontrados não ultrapassam o limite máximo tolerável (UL) estabelecido pela Organização mundial de Saúde.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. M. B.; LOPES, M. F. G.; NOGUEIRA, C. M. D.; MAGALHÃES, C. E. C.; MORAIS, N. M. T. Determinação de Nutrientes Minerais em Plantas Medicinais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 22, n. 1, p.1-7, 2002.
- AMARANTES, C. B.; SILVA, J. C. F.; MÜLLER, R. C. S. Avaliação da composição mineral do chá da folha senescente de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae) por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). *Química Nova*, São Paulo, v. 34, p. 419- 423, 2011.
- BERG, C.; ROSSELLI, F. P. Cecropia. *Flora Neotropica Monograph*, Nova York, v. 94, p. 230, 2005.
- BERLINI, E.; SILVA, M. A. B.; CARMO, T. M. S.; CUZZUOL, G. R. F. Spatial and temporal variation of the nutrients in sediment and leaves of two Brazilian mangrove species and their role in the retention of environmental heavy metals. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Campos dos Goytacazes, RJ, v. 22, p. 177-187, 2010.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. *Bioquímica ilustrada*. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996. 705 p.
- CUZZUOL, G. R. F. C. Aspectos nutricionais na vegetação de manguezal do estuário do rio Mucuri. *Revista Brasileira de Botânica*, Bahia, v. 24, p. 227-243, 2001.
- DISTASI, L. C.; OLIVEIRA, G. P.; CARVALHAES, M. A.; QUEIROZ-JUNIOR, M.; TIENA, O. S.; KAKINAMIA, S. H.; REIS, M. S. 2002. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Florest. *Fitoterapia*, Philadelphia, USA, v. 73, p. 69-91, 2002.
- ERNEST, E. Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines. *Trends in Pharmacological Science*, v. 23, p. 136-139, 2002.
- FRANCO, M. J.; CAETANO, I. C. S.; CAETANO, J.; DRAGUNSKI, D. N. C. Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama - Pr. *Arquivo Ciência e Saúde*, Uruarama, v. 15, n. 2, p. 121-127, 2011.
- HARPER, H.; RODELF, V. W.; MAYES, R. A. *Manual de química fisiológica*. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 1982.
- <[http://www.who.in/nutrition/publications/guide\\_food\\_fortification\\_micronutrients.pdf](http://www.who.in/nutrition/publications/guide_food_fortification_micronutrients.pdf)>. Acesso em: 20 out. 2013.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 347-381, 2007.
- LEITE, J. P. V. *Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas*. São Paulo: Atheneu, 2009.

LIMA, R. L. S.; SIQUEIRA, D. L.; FERREIRA, G. B.; WEBER, O. B.; CAZETTA, J. O.; LOPES, F. F. M. Variação sazonal de micronutrientes em folhas de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 32, p. 869-874, 2008.

LUIZÃO, F. J. Ciclo de nutrientes na Amazônia: respostas as mudanças ambientais. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 59, n. 3, jul./set. 2007.

MARTINS, A. S.; ALVES, C. N.; LAMEIRA, O. A.; SANTOS, A. S.; MÜLLER, R. C. S. Avaliação de minerais em plantas medicinais amazônicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 19, p. 621-625, 2009.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. E. Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia. In: ANDERSON, J. J. B. *Minerais*. 11. ed. São Paulo: Roca, 2005. p. 115-155.

MAIGA, A. Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, California, v. 53, p. 2316, 2005.

MENDES, A. D. R.; OLIVEIRA, E. D. M.; NASCIMENTO, M. N.; REIS, K. M.; BONOME, L. T. S. Concentração e redistribuição de nutrientes minerais nos diferentes estádios foliares de seringueira. *Acta Amazônica*, Manaus, v. 42, 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. *Recommended Dietary Allowances (RDA)*. 10 ed. National Academy of Science: Washington, 1989.

OLGA, S. *Fundamentos de Toxicologia*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

RIBEIRO, G. D. *Algumas espécies de plantas reunidas por famílias e suas propriedades*. Porto Velho, RO: EMBRAPA, 2010. 181 p.

ROJAS, J. J.; OCHOA, V. J.; OCAMPO, S. A.; MUÑOZ, J. F. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in colombian folkloric medicine: a possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *Complementary and Alternative Medicine*, Londres, v. 6, p. 1-8, 2006.

SAIDELLES, A. P. F.; KIRCHENER, R. M.; SANTOS, N. R. Z.; FLORES, E. M. M.; BARTZ, E. R. Análises de metais em amostras comerciais de erva-mate do sul do Brasil. *Alimento e Nutrição*, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 258-265, 2010.

TANAE, M. M.; LIMA-LANDAM, M. T.; LIMA, T. C. M.; SOUCCAR, C.; LAPA, A. Chemical standardization of the aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sheth end wed with antihypertensive, bronchodilator, antiacid secretion and antidepressant-like activities. *Phytomedicine*, USA, v 14, p. 309-313, 2007.

VILELA, D. M.; LACERDA, L. D. Dinâmica de elementos minerais em folhas de duas espécies arbóreas de cerrado. *Revista Brasileira de Biologia*, São Carlos, v. 52, p. 151-160, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. *Trace elements in human nutrition and health*. WHO: Geneva, 1996.