

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**CONSTITUIÇÃO MINERAL DE ALGUMAS ESPÉCIES
DA FLORA BRASILEIRA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Carolina Bolssoni Dolwitsch

Santa Maria, RS, Brasil

2015

INFLUÊNCIA TEMPORAL NA CONSTITUIÇÃO MINERAL DE ALGUMAS ESPÉCIES DA FLORA BRASILEIRA

Carolina Bolssoni Dolwitsch

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Controle e Avaliação de Insumos e Produtos Farmacêuticos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Barcellos da Rosa

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

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

**INFLUÊNCIA TEMPORAL NA CONSTITUIÇÃO MINERAL DE
ALGUMAS ESPÉCIES DA FLORA BRASILEIRA**

elaborada por
Carolina Bolssoni Dolwitsch

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Marcelo Barcellos da Rosa, Dr.
(Presidente/Orientador)

Camilo Amaro de Carvalho, Dr. (UFV)

Carine Viana Silva, Dra. (UFSM)

Santa Maria, 23 de julho de 2015.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Elida e Edson, pelo amor, pelo apoio em todas as escolhas, por todos os ensinamentos da vida. Vocês são exemplos de pais.

Aos meus avós Sirlei e Édio, por serem meus segundos pais, sempre com muito carinho.

As minhas irmãs Julia e Natália, pelo companheirismo e incentivo. Sei que posso contar com vocês todas as horas. Quem tem irmãos, tem tudo!

Ao meu companheiro, Vítor. Obrigada pelo amor, por me compreender em todos os momentos, por me alegrar em todas as horas, por fazer todas as minhas vontades. Por trabalhar tanto pra realizar os nossos sonhos. Te amo!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Barcellos da Rosa, por me acolher desde a iniciação científica e pela oportunidade de realizar o mestrado, sempre com muita compreensão.

Aos familiares do Vítor, em especial a minha cunhada Geovana. Por ser exemplo de pessoa e de pós-graduanda. Por me incentivar tanto a seguir esse caminho. E a sobrinha Maria Clara por todo amor sem esperar nada em troca.

As minhas amigas, bibis. Valéria Dál Prá, obrigada por também me orientar durante o mestrado, por me ensinar muito sobre artigos, e tantas outras infinitas coisas. Diana Tomazi Muratt, obrigada por ser minha irmã emprestada, a pessoa mais parceira que existe. Patrícia Mattiazzi, obrigada por tirar minhas inúmeras dúvidas na AAS e me compreender tanto. Também, Marlise Ferreira Mortari, Mariana Bortoluzzi, Fernanda Pires e Marcia Barrichelo. Gurias, obrigada pela amizade verdadeira, companheirismo, risadas, bibiencontros, vocês fizeram tudo valer a pena!

Aos colegas Bruna Ávila Wiethan e Alexsandro Nunes Colim, obrigada por fazerem o meu trabalho um pouco o de vocês. Por me ajudarem especialmente em toda a parte experimental, pelas inúmeras discussões construtivas que tivemos, por deixarem toda trabalhadeira um pouco mais leve, principalmente por causa do bom humor. Sou infinitamente grata à vocês!

As IC's. Viviane Schneider por lavar incansavelmente o material utilizado, sempre com muita disposição. Também a Paola Ziani e Francieli Rovasi pelo apoio técnico.

Aos colegas da AAS, Ananda Guarda, Luiz Ferraz, Lucas Bressan, por tirarem muitas das minhas dúvidas, por me darem os treinamentos, por me ajudarem a resolver os problemas com os equipamentos e gases.

A Débora Monego pela ajuda com o inglês.

Aos demais colegas do Lachem, Thaís, Lisandro, Henrique, Marcella, Géssica, Larissa, Luciana, Gabriela Z., Sandra, Rayanne, Chrys, Luís C., Fábio, Rejane, Roberta, pela amizade. De alguma forma vocês também contribuíram para a realização deste trabalho.

A CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

INFLUÊNCIA TEMPORAL NA CONSTITUIÇÃO MINERAL DE ALGUMAS ESPÉCIES DA FLORA BRASILEIRA

AUTORA: CAROLINA BOLSSONI DOLWITSCH
ORIENTADOR: MARCELO BARCELLOS DA ROSA
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 23 de julho de 2015.

As plantas são muito utilizadas para fins medicinais, especialmente no Brasil, principalmente devido a sua grande biodiversidade de flora nativa. Embora a determinação dos fitocompostos de vegetais seja o mais recorrente na literatura, vêm aumentando o interesse dos pesquisadores pela composição inorgânica de plantas, visto que os minerais podem apresentar tanto caráter nutricional, quanto tóxico. Deve-se ressaltar também que a presença desses minerais nas plantas está relacionado com o ambiente de cultivo. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição mineral, em termos de constituintes inorgânicos essenciais e não essenciais para três anos de amostragem, das espécies amazônicas de grande interesse medicinal *Cecropia palmata*, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata L.*, *Bauhinia variegata L. var. alboflava*, *Mansoa alliacea* e *Connarus perrottetti var. angustifolius* cultivadas em Belém-PA, utilizando a espectrometria de absorção atômica como ferramenta analítica. Todas as espécies apresentaram concentrações de minerais essenciais acima dos valores diários de ingestão recomendados, indicando que podem auxiliar na complementação de dietas alimentares, com exceção para o sódio, que foi encontrado em baixas concentrações. Dessa forma, não há restrições no consumo dessas plantas para pessoas com intolerância a esses minerais. Além disso, não foram encontrados níveis tóxicos de minerais não essenciais nessas plantas, porém, deve-se considerar a contribuição mineral de outros alimentos ingeridos diariamente. Em relação aos diferentes anos de amostragem, foram observadas variações nas concentrações dos elementos, porém tais oscilações não foram uniformes. Tendo em vista que os elementos químicos podem sofrer influências ambientais, ou seja, podem variar dependendo do local de cultivo, estudos complementares com as mesmas espécies em outras regiões são recomendados.

Palavras-chave: Espécies amazônicas, composição mineral, variação temporal.

ABSTRACT

Master Course Dissertation
Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences
Universidade Federal de Santa Maria

TEMPORAL INFLUENCE ON THE MINERAL COMPOSITION OF SOME SPECIES OF THE BRAZILIAN FLORA

AUTHOR: CAROLINA BOLSSONI DOLWITSCH

ADVISER: MARCELO BARCELLOS DA ROSA

Defense Place and Date: Santa Maria, July 23, 2015.

Many plants are widely used for medicinal purposes, especially in Brazil. The chemical composition of these plants arises from the environmental characteristics under which they are grown. Lately, researches have drawn attention to the inorganic composition evaluation of these matrices, since minerals might present either nutritional or toxic character. Hence, the objective of this work was to obtain the mineral composition in terms of essential and non-essential inorganic constituents for three sampling years of Amazonian species grown in Belém/PA: *Cecropia palmata*, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata* L., *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava*, *Mansoa alliacea* and *Connarus perrottetti* var. *angustifolius*. The analytical technique used was Atomic Absorption Spectrometry. All species showed essential minerals contents above recommended daily intake, indicating they may act as diet supplements. Sodium was an exception, being present at low concentrations. Therefore, there are no restrictions on the consumption of these plants for people intolerant to those minerals. Moreover, levels of non-essential minerals were not considered toxic. However, mineral contribution of other foods in the daily diet must be considered. Concerning the different years of sampling, it was observed that there is a non-uniform variation on these elements concentrations through time. Considering that such minerals contents are influenced by the environment where they are grown, further studies with the same species cultivated in different regions are recommended.

Key words: Amazonian species, mineral composition, temporal variation.

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1

Figura 1 - Variation in mineral composition (K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Se, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg) of *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* in 2012-2014..... 35

Figura 2 - Variation in mineral composition (K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Se, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg) of *Mansoa alliacea* in 2012 -2014..... 35

Artigo 2

Figura 1 - - Variation in mineral composition (K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Se, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg) of *Cecropia obtusa* in 2012-2014..... 56

Figura 2 - Variation in mineral composition (K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Se, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg) of *Cecropia palmata*..... 56

Figura 3 - Variation in mineral composition (K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Se, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg) of *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava*..... 57

Figura 4 - Variation in mineral composition (K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Se, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg) of *Bauhinia variegata* L..... 57

LISTA DE QUADROS

Revisão bibliográfica

| | |
|---|----|
| Quadro 1 - Características etnobotânicas para os gêneros <i>Bauhinia</i> , <i>Cecropia</i> , <i>Mansoa</i> e <i>Connarus</i> | 17 |
| Quadro 2 - Toxicidade dos elementos não essenciais analisados neste trabalho..... | 20 |

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 - Instrumental technique used and values observed for K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg determination in samples of *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* and *Mansoa alliacea*..... 33

Tabela 2 - Dietary Reference Intake (DRI) or Adequate Intake (AI) values and Tolerable Upper Intake Level (UL) to macro-minerals, micro-minerals and toxic elements. Concentrations in samples of *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* and *Mansoa alliacea*..... 39

Artigo 2

Tabela 1 - Microwave-assisted acid digestion program..... 53

Tabela 2 - Instrumental technique used and values observed for K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg determination in samples of *Cecropia palmata*, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* e *Bauhinia variegata*..... 54

Tabela 3 - Dietary Reference Intake (DRI) or Adequate Intake (AI) values and Tolerable Upper Intake Level (UL) to macro-minerals, micro-minerals and toxic elements. Concentrations in samples of *Cecropia palmata*, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* e *Bauhinia variegata*..... 61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------------|---|
| AI | Adequate intake/ingestão adequada |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| DRI | Dietary reference intake/ingestão diária recomendada |
| EPA | Agência de proteção ambiental |
| FAAS | Espectrometria de absorção atômica com chama |
| GF AAS | Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite |
| H ₂ O ₂ | Peróxido de hidrogênio |
| HCl | Ácido clorídrico |
| HG-AAS | Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos |
| HNO ₃ | Ácido nítrico |
| HR-CS GFAAS | Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua equipado com forno de grafite |
| IARC | Agência internacional de investigação do câncer |
| LD | Limite de detecção |
| LQ | Limite de quantificação |
| OMS/WHO | Organização mundial da saúde |
| UL | Tolerable Upper Intake Level/nível máximo de ingestão |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 14 |
| 2 OBJETIVOS..... | 16 |
| 2.1 Objetivo geral..... | 16 |
| 2.2 Objetivo geral..... | 16 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 17 |
| 3.1 Plantas..... | 17 |
| 3.2 Composição química de plantas medicinais..... | 18 |
| 3.3 Absorção atômica..... | 22 |
| 3.3.1 Espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)..... | 22 |
| 3.3.2 Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS)..... | 23 |
| 3.3.3 Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HGAAS)..... | 23 |
| 3.3.4 Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS)..... | 24 |
| 4. ARTIGO 1 - Mineral composition of <i>Connarus perrottetii</i> var. <i>angustifolius</i> and <i>Mansoa alliacea</i> | 25 |
| Abstract..... | 27 |
| 1. Introduction..... | 28 |
| 2. Materials and methods..... | 30 |
| 2.1 Sampling..... | 30 |
| 2.2 Reagents..... | 30 |
| 2.3 Digestion Procedures..... | 31 |
| 2.4 Apparatus..... | 31 |
| 2.5 Recovery assays..... | 32 |
| 3. Results and discussion..... | 32 |
| 3.1 Limits of detection of the analytical method and recovery tests..... | 32 |
| 3.2 Mineral composition over different years of collection..... | 34 |
| 3.3 Mineral levels in studied plants..... | 38 |
| 4. Conclusion..... | 41 |
| Acknowledgments..... | 41 |
| 5. Referencs..... | 42 |
| 5. ARTIGO 2 - <i>Cecropia</i> and <i>Bauhinia</i> species: variation of mineral composition and nutritional implications for different sampling years..... | 47 |
| Abstract..... | 49 |

| | |
|--|----|
| 1. Introduction..... | 50 |
| 2. Materials and methods..... | 51 |
| 2.1 Reagents..... | 51 |
| 2.2 Apparatus..... | 52 |
| 2.3 Sampling..... | 52 |
| 2.3.1 Digestion (sample mineralization)..... | 52 |
| 2.4 Recovery assays..... | 53 |
| 3. Results and discussion..... | 54 |
| 3.1 Mineral composition over different years of collection | 54 |
| 3.2 Mineral levels in studied plants..... | 60 |
| 4. Conclusion..... | 63 |
| Acknowledgments..... | 63 |
| 5. Referencs..... | 64 |
| 6 DISCUSSÃO INTEGRADA..... | 68 |
| 7 CONCLUSÃO..... | 69 |
| 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 70 |

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins terapêuticos é uma das mais antigas formas de prática medicinal relatadas na história. Há indícios que nossos ancestrais tenham percebido o poder medicinal de algumas plantas através de observações da natureza (MARTHE, 2011). Atualmente, o uso de plantas medicinais continua em grande expansão, no mundo. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 80% da população mundial já fez o uso da medicina tradicional para sanar as necessidades de assistência médica primária. E entre os principais fatores que levaram a população a utilizar plantas como medicamentos estão a tradição cultural, falta de outra alternativa terapêutica e a crença que os produtos derivados de plantas, por serem naturais, são inofensivos à saúde (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Ainda que a utilização de plantas para prevenção ou tratamento de doenças tenha iniciado de forma empírica, hoje é comprovado que elas desempenham benefícios para a saúde. Muitas das atividades farmacológicas das plantas responsáveis por tais benefícios ocorrem não só pelos compostos orgânicos, mas também devido aos constituintes inorgânicos (TEMPLE, 2000; LIU, 2003). Sabe-se que esses constituintes não são estáveis, nem se distribuem homoganeamente na planta e também podem variar de acordo com as características do ambiente.

O Brasil é considerado promissor no que diz respeito a estudos com plantas medicinais, por possuir uma grande diversidade de flora nativa, principalmente pelo abrigo de uma extensa área da Floresta Amazônica. Dentre as inúmeras espécies com interesse medicinal estão a *Cecropia palmata*, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata L.*, *Bauhinia variegata L. var. alboflava*, *Mansoa alliacea* e *Connarus perrottetti var. angustifolius*. Estas são encontradas na Amazônia e são amplamente utilizadas pela população. Porém é muito limitado o acervo bibliográfico sobre essas espécies.

O clima da região amazônica é muito peculiar, as estações do ano são caracterizadas por um período de estiagem entre setembro e outubro e por um período chuvoso entre abril e maio, o que muitas vezes pode possibilitar propriedades diferenciadas às plantas, já que fatores ambientais podem influenciar diretamente na composição química de espécies vegetais.

Ultimamente vem aumentando o interesse pelos constituintes inorgânicos presentes em produtos consumidos frequentemente pela população, visto que esses podem trazer, tanto benefícios, quanto malefícios à saúde (FRANCO et al., 2011). Há ainda uma preocupação adicional pelo fato de muitos desses produtos não serem industrializados, como é o caso das plantas *in natura*, as quais não tem sua qualidade assegurada. De forma geral, as plantas absorvem os minerais do ambiente onde vivem, os quais ficam acumulados e por sua vez vão ser repassados para quem os consome. Alguns minerais incorporados são essenciais para a saúde humana até certas concentrações, visto que participam de diversos processos metabólicos. Dessa forma, plantas contendo esses nutrientes podem ser utilizadas para suplementar as necessidades diárias de minerais. (ALMEIDA et al., 2002; LOPES et al., 2002; ANDRADE; ALVES; TAKASE, 2005; DELAPORTE et al., 2005). Em contrapartida, os vegetais também podem acumular constituintes inorgânicos não essenciais, os quais, mesmo em baixas concentrações, muitas vezes são tóxicos e têm a capacidade de bioacumular no organismo (DIM et al., 2004).

Considerando que são limitadas as informações sobre essas espécies, ainda mais englobando a composição inorgânica e sua relação com o ambiente. Além disso, são poucas as informações sobre o papel desses minerais no potencial farmacológico e toxicológico das plantas e se esses podem alterar o estado de saúde de quem as consome. Assim, despertou-se o interesse em obter informações científicas mais consistentes sobre essas espécies à luz da temática, tanto da constituição mineral, quanto da influência temporal na absorção e/ou fixação de minerais por essas plantas.

As plantas relatadas neste trabalho estão sendo estudadas de forma consorciada com outros grupos de pesquisa, o que possibilita um estudo interdisciplinar. As espécies foram selecionadas pela ampla ação farmacológica já relatada na literatura especializada, bem como ao apelo, tanto nutricional, quanto da medicina popular. Este trabalho está disposto na forma de artigos científicos. Inicialmente é apresentada uma introdução geral, revisão da literatura, objetivos gerais e específicos. Em seguida, são apresentados dois artigos científicos referentes aos resultados experimentais desse trabalho, além de uma seção integrando a discussão do mesmo. Para finalizar, é apresentada a conclusão geral da pesquisa realizada.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a constituição mineral das espécies *Cecropia obtusa*, *Cecropia palmata*, *Bauhinia variegata L.*, *Bauhinia variegata L. var. alboflava*, *Mansoa alliacea* e *Connarus perrottetti var. angustifolius* coletadas no intervalo de três anos diferentes.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a constituição mineral em termos de nutrientes essenciais (K, Ca, Mg Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Cr) e não-essenciais (Pb, Cd, Hg, As, Ni) para folhas de *Mansoa alliacea* e cascas *Connarus perrottetti var. angustifolius* coletadas no intervalo de três anos diferentes correlacionando com aspectos nutricionais e toxicológicos.






- Estabelecer a constituição mineral em termos nutrientes essenciais (K, Ca, Mg Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Cr) e não-essenciais (Pb, Cd, Hg, As, Ni) para folhas de *Cecropia obtusa*, *Cecropia palmata*, *Bauhinia variegata L.* e *Bauhinia variegata L. var. alboflava* coletadas no intervalo de três anos diferentes correlacionando com aspectos nutricionais e toxicológicos.


3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Plantas

As características das espécies estudadas neste trabalho estão agrupadas no quadro 1.

Quadro 1. Características etnobotânicas para os gêneros *Bauhinia*, *Cecropia*, *Mansoa* e *Connarus*

| GÊNERO/ESPÉCIE | CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS | USO POPULAR | FITOCOMPOSTOS IDENTIFICADOS |
|---|---|--|--|
|  <i>Bauhinia variegata</i> L.  <i>Bauhinia variegata</i> L. var. <i>albiflora</i> | <p>Gênero da família das Leguminosas que compreende aproximadamente 300 espécies. No Brasil, as plantas do gênero <i>Bauhinia</i> são conhecidas como “Pata-de-vaca” ou “Unha-de-boi” (SILVA, CECHI-NEL, 2002; BIANCO; SANTOS, 2003; dos SANTOS et al., 2014)</p> | <p>Hipoglicemiantes, antibacterianas, cicatrizantes, anti-inflamatórias e expectorantes (MISHRA et al., 2013; BANSAL et al., 2015;).</p> | <p>Ácidos orgânicos, alcalóides, cumarinas, esteróis, flavonoides, guanidina, heterosídeos saponínicos, minerais, pigmentos, taninos e triterpenos. (REDY et al., 2003; SHINDE et al., 2012; SARAVANAMUTTU; SUDARSANAM, 2012).</p> |
|  <i>Cecropia pamata</i>  <i>Cecropia obtusa</i> | <p>O gênero <i>Cecropia</i> pertence a família Moraceae ou Cecropiaceae, é nativa da América e compreende cerca de 100 espécies, entre elas <i>Cecropia obtusa</i> e <i>Cecropia palmata</i> as quais são conhecidas popularmente como embaúba, embaúva e árvore da preguiça. As espécies deste gênero são árvores com tronco ereto e oco e de grande porte, com folhas grandes (LUENGAS-CAICEDO, 2005; ROCHA et al., 2007; NICOSAI-TORRES et al., 2012).</p> | <p>Tratamento das enfermidades das vias respiratórias, hepatite, diabetes, inflamações do útero e como cicatrizante (LUENGAS-CAICEDO, 2005; ROCHA et al., 2007; NI-COSAI-TORRES et al., 2012).</p> | <p>alcaloides, triterpenos, saponinas, cumarinas, flavonoides, glicosídeos, resina e taninos (LUENGAS-CAICEDO, 2005; ROCHA et al., 2007; NICOSAI-TORRES et al., 2012).</p> |
|  <i>Connarus perrottetti</i> var. <i>angustifolius</i> | <p><i>Connarus</i> é um gênero da família Connaraceae, o qual é distribuído exclusivamente em regiões tropicais e compreende cerca de 16 espécies. As plantas desse gênero são popularmente conhecidas como barbatimão do Pará (PARACAMPO, 2011).</p> | <p>Tratamento de câncer de útero, infecções geniturinárias, hemorragia uterina, doenças gástricas, cefaléias e gripe (COELHO-FERREIRA, 2009).</p> | <p>Alcaloides, triterpenos, flavonoides (LE et al., 2005).</p> |

| | | | |
|---|--|--|---|
|  <p><i>Mansoa alliacea</i></p> | <p>Gênero pertencente à família Bignoniaceae, a qual inclui outras 11 espécies de plantas, que ocorrem principalmente nas florestas do Brasil e da Argentina, até o sudeste do México. Caracteriza-se como um arbusto semi-trepador. No Brasil, principal-mente no Pará, a <i>Mansoa alliacea</i> é conhecida como “cipó-d’alho” devido ao cheiro característico de alho das folhas quando maceradas. (ZOGHBI; OLIVEIRA; GUILHON, 2009).</p> | <p>Tratamento de gripe, febre, tosse, dor, enjôo, inflamação, ansiedade, artrite e reumatismo (ZOGHBI; OLIVEIRA; GUILHON, 2009).</p> | <p>Alcaloides, ácidos do tipo dialil sulfídrico, taninos, saponinas triterpenoides, flavonoides e flavonas (ZOHGBI et al., 2009, SOUZA-FILHO; NASCIMENTO, 2012; TIWARI et al., 2012).</p> |
|---|--|--|---|

3.2 Composição química de plantas

As plantas apresentam uma composição química muito complexa e diversificada, e é justamente por isso que elas exibem diversas propriedades. Embora as atividades farmacológicas das plantas ocorram devido aos compostos orgânicos, o conhecimento da composição inorgânica faz-se necessário, visto que se tais constituintes estiverem presentes podem interferir na ação terapêutica, potencializando ou reduzindo sua atividade, bem como ter valor nutricional ou ainda efeitos tóxicos. As plantas absorvem os minerais do ambiente onde vivem, esses, por sua vez, estão presentes naturalmente no solo e em sistemas aquáticos, e são característicos de cada região. Porém, tanto atividades naturais como antrópicas podem proporcionar o aumento de sua concentração no ambiente e conseqüentemente nas plantas. Os processos naturais que mais contribuem com o aumento do teor de minerais são a lixiviação do solo e decomposição de rochas. Já em relação aos processos em que há a ação do homem, destacam-se a siderurgia, o uso de fertilizantes e pesticidas (SOBRAL et al., 2011). Uma vez presentes nas plantas, os minerais ficam acumulados e vão ser repassados pra quem os consome.

O homem precisa adquirir alguns minerais essenciais através da alimentação em maiores ou menores quantidades, diariamente, pois são indispensáveis para o bom funcionamento do organismo, uma vez que atuam em diversas rotas metabólicas vitais, incluindo síntese de proteínas, vitaminas e regulação de enzimas (SILVA et al., 2005). Segundo Almeida e colaboradores (2009) vários problemas de saúde podem estar

relacionados com a deficiência de determinados nutrientes essenciais. Entretanto, mesmo sendo fundamentais para a saúde, se a quantidade de consumo é maior que a dose diária indicada, esses podem vir a ser tóxicos. É de fundamental importância conhecer o teor de nutrientes essenciais em plantas, visto que essas são consumidas frequentemente pela população.

Uma vez que a ingestão de nutrientes essenciais é muito importante para a saúde humana e que espécies vegetais podem ser uma boa fonte desses minerais, alguns estudos vêm sendo realizados a fim de demonstrar a possibilidade de utilizar plantas medicinais para auxiliar na suplementação alimentar de minerais (ALMEIDA et al., 2002; LOPES et al., 2002; ANDRADE et al., 2005; DELAPORTE et al., 2005).

Cabe ressaltar que existem diversos trabalhos na literatura científica envolvendo o teor de nutrientes essenciais em plantas medicinais, porém pouco se sabe sobre o valor nutricional das espécies de plantas abordadas nessa dissertação.

Vijayakumari e colaboradores (1997) determinaram o teor de Ca, Fe, Zn, Mn, Mg, Cu, K, Na e P em sementes de *Bauhinia purpurea* L e constataram que essa espécie apresentou níveis de K, P e F superiores a outras leguminosas comestíveis.

Andrade e colaboradores (2005) analisaram o teor de Cu, Fe e Zn por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) em ervas medicinais incluindo a pata-de-vaca, e constataram que o uso dessas ervas pode favorecer a suplementação de Cu, Fe e Zn.

Pinto e colaboradores (2005) analisaram sementes de *Bauhinia variegata* quanto aos teores de Cu, Zn, Mn, Fe, K, Ca, Mg, P por FAAS e verificaram que elas possuem níveis desses minerais semelhantes a outras leguminosas que são utilizadas na alimentação, sendo adequadas para o consumo humano.

Santos Jr. e colaboradores (2006) analisaram o teor de Ca, Fe, Zn, Mn, Mg, Cu, K, P e N em algumas plantas incluindo *Cecropia ficifolia*, *Cecropia sciadophylla* e constataram que essas duas espécies contêm grande quantidade de Ca.

Martins e colaboradores (2009) determinaram o teor de micronutrientes Ca, Mg, Fe, Cu e Zn nas folhas de algumas plantas medicinais da Amazônia, entre elas *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. da família Bignoniaceae, por FAAS, e verificaram que essas plantas contêm esses nutrientes e que poderiam ser utilizados para complementar as dietas alimentares.

Silva e colaboradores (2010) avaliaram as concentrações de Fe, Mn e Zn por FAAS na casca do fruto e nas folhas de *Caesalpinia ferrea*. Por a planta apresentar altos níveis dos elementos analisados, quando comparados com outras plantas medicinais, os pesquisadores

concluíram que *Caesalpinia ferrea* pode ser uma fonte alternativa destes elementos na dieta alimentar.

Ramos e colaboradores (2013) avaliaram o conteúdo de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em chás das folhas de *Cecropia palmata* e concluíram que o consumo de uma xícara de chá padrão não ultrapassa os valores do limite máximo tolerável.

Asghari, Palizban e Bakhshaei (2015) determinaram Ca e K, além de vitaminas A e C em folhas e sementes de *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori, uma árvore reconhecida por suas propriedades medicinais. O estudo revelou que o consumo diário das folhas e sementes dessa planta pode fornecer quantidades diárias significativas tanto das vitaminas como de minerais, já que as amostras apresentaram quantidades relativamente altas de tais minerais.

Em contrapartida, há a incorporação na dieta de elementos não essenciais à saúde, os quais mesmo em baixas concentrações são prejudiciais, pois não desempenham nenhuma função conhecida no organismo. Tais elementos não são metabolizados e acabam permanecendo no corpo, ou seja, são bioacumulados (NAVA, et al., 2011). Além disso, segundo Fraga e Oteiza (2002) muitos metais, por possuírem elétrons não pareados, podem catalisar reações que formam radicais livres no organismo humano, favorecendo o desenvolvimento de tumores. Outro problema relacionado a esses elementos é a capacidade que eles apresentam de competir com os minerais essenciais substituindo esses em processos biológicos normais, levando assim a alterações em alguns processos fisiológicos (MASSARO, 1997). A toxicidade dos elementos não essenciais analisados neste trabalho são descritas no quadro 2.

Quadro 2. Toxicidade dos elementos não essenciais analisados neste trabalho

| Elemento | Características |
|----------|--|
| Cd | O cádmio é considerado carcinogênico para humanos pela Agencia Internacional de Pesquisa (IARC) (IARC, 1993). Pode causar hipertensão (GOYER, 1995) e problemas renais (NORDBERG, 1999). |
| Pb | Em humanos a exposição ao chumbo pode causar danos neurológicos, hematológicos, renais, reprodutivos, cardiovasculares e ósseos. Além disso pode ultrapassar a barreira placentária (NOLAN; SHAIKH, 1992; MASSARO, 1997). |
| Hg | Além de permear a barreira placentária, é nefrotóxico, neurotóxico e genotóxico (COX; CLARKSON; MARSH, 1989; GOYER, 1995). |
| As | É considerado cancerígeno para humanos segundo o IARC (IARC, 1993). Pode ocasionar patologias de pele, gastro-intestinais, cardiovasculares, hematológicas, neurológicas e reprodutivas (MILTON et al., 2005; KWOK; KAUFMANN; JAKARIYA, 2006). |

Vários estudos sobre a presença de metais tóxicos em plantas medicinais são encontrados na literatura. Porém, estudos apresentando a determinação desses constituintes nas espécies descritas neste trabalho são ainda muito modestos e preliminares.

Dim e colaboradores (2004) analisaram os elementos Al, Ba, Br, Ca, Co, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb, Sc, Sr, V e Zn em *Ageratum conyzoides*, uma planta medicinal amplamente usada na Nigéria. Foi detectada a presença de elementos essenciais à saúde, bem como elementos potencialmente tóxicos. Esses resultados apontaram que o consumo dessa planta não deve ser feito de forma indiscriminada.

Caldas e Machado (2004) determinaram o teor de Cd, Hg e Pb em plantas medicinais brasileiras. Em algumas delas foram detectados esses metais o que pode ser motivo de preocupação para quem os ingere em grande quantidade e a longo prazo.

Basgel e Erdemoglu (2005) determinaram Cd, Cr e Pb, em *Matricaria chammomile* L., *Foeniculum vulgare*, *Tilia vulgaris*, *Urtica dioical*, *Rosa caninae*, *Salvia officinalis* e *Cassia anqustifolia* na Turquia. Os autores não observaram a presença de elementos tóxicos nessas ervas medicinais, porém ressaltam que dependendo das condições de cultivo e processamento, as ervas podem ser facilmente contaminadas.

Franco e colaboradores (2011) determinaram o teor de metais, entre eles, Pb e Cd, em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama-PR, incluindo *Bauhinia forficata*, planta do gênero *Bauhinia*. No estudo não constatou-se a presença de Pb e Cd em nenhuma das amostras, sendo seguro o consumo das espécies.

Leal e colaboradores (2013) avaliaram a presença de Al, As, Au, Ba, Br, Ca, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, Hf, Hg, K, La, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Sr, Th, V e Zn em dez plantas medicinais altamente consumidas no Brasil, incluindo *Erythrina velutina* da família *Fabaceae*. O estudo revelou a presença de vários elementos não essenciais, entre eles As, Au, Ba, Ce, Co, Cr, Cs, Hf, La, Rb, Sb, Sm, Sr, Th e V. Segundo os autores, o consumo dessas plantas a longo prazo pode gerar toxicidade.

Mahmood e colaboradores (2013) determinaram o teor de alguns metais incluindo Cd, Cr e Pb, em plantas medicinais indígenas utilizadas no Paquistão e verificaram altos níveis de Pb. Os pesquisadores destacaram que a ingestão prolongada de plantas medicinais pode causar um acúmulo crônico de vários elementos que podem causar graves efeitos na saúde.

Muller e colaboradores (2015) determinaram As, Cd, Hg e Pb em *Passiflora incamata* L., *Paulinia cupana*, *Maytenus ilicifolia* e *Peumus boldus*. *Passiflora incamata* L. apresentou a maior concentração de Pb, próximo ao limite recomendado na farmacopeia americana.

Segundo os autores, o resultado mostra que é necessário fazer o controle deste elemento em plantas medicinais.

3.3 Espectrometria de absorção atômica

A espectrometria de absorção atômica é considerada uma técnica analítica bem sucedida. É uma das técnicas mais utilizadas devido a sua alta especificidade, sensibilidade, robustez, baixos limites de detecção para vários elementos em diferentes amostras e baixo custo (FRESCHI et al., 2000; AMORIM, 2008). Baseia-se na absorção da energia radiante pelas espécies atômicas neutras, não-excitadas, em estado gasoso. Na absorção atômica, o elemento que se deseja determinar é levado a uma condição de dispersão atômica gasosa, através da qual se faz passar o feixe de radiação de uma fonte apropriada. O átomo num estado de menor energia (estado fundamental) absorve luz e passa para um estado de maior energia (estado excitado) e logo em seguida esta mesma energia é emitida e o átomo volta para o mesmo estado energético (WELZ, SPERLING, 1999). A quantificação se dá pelos princípios da lei de Beer. De acordo com essa lei, quanto maior a quantidade de átomos presentes no estado fundamental no atomizador, maior será a absorção observada.

O princípio de um espectrômetro de absorção atômica é sempre o mesmo nas diferentes técnicas, as diferenças baseiam-se na forma como a amostra é atomizada. Isso pode ocorrer através de uma chama, forno de grafite ou gerador de hidretos.

3.3.1 Espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)

É uma técnica de fácil operação e manutenção, baixo custo e de curto tempo de análise. Porém utiliza um volume de amostra relativamente grande. A faixa de trabalho é na ordem de mg.L^{-1} . Para a realização desta técnica a amostra a ser analisada precisa estar na forma de uma solução. Para realização do procedimento, um nebulizador introduz a amostra líquida e a transforma num aerossol, transportando-a até a chama do queimador (SKOOG et al., 2008). Essa técnica tem uma sensibilidade limitada por fatores como: pequeno tempo de permanência dos átomos no caminho óptico, pelo caráter dinâmico da chama, baixa eficiência

do processo de introdução da amostra, no máximo 10% da amostra atinge a chama, diluição da nuvem atômica nos gases da chama e diminuição da temperatura da chama, pois essa deve possuir uma temperatura suficiente para vaporizar a amostra e atomizar o elemento (WELZ, SPERLING, 1999).

3.3.2 Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS)

Em relação ao custo, facilidade de operação e manutenção é oposta a chama, além de necessitar uma quantidade de amostra muito pequena, pode ser até 1000 vezes menor que a anterior. É utilizada na determinação de elementos traço (concentração na ordem de $\mu\text{g.L}^{-1}$) devido a sua seletividade e sensibilidade. Além disso, há a possibilidade da análise sem nenhuma preparação da amostra. Em relação ao aumento de sensibilidade, ele ocorre porque toda a amostra é atomizada em um curto intervalo de tempo e o tempo de residência dos átomos no caminho óptico é maior. Também, as amostras são introduzidas no forno e ficam confinadas, o que significa que não são diluídas, como acontece na chama (SKOOG et al., 2008).

3.3.3 Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HGAAS)

É usada para um número limitado de elementos, já que eles precisam ser capazes de formar hidretos voláteis. A geração do hidreto ocorre pela redução do analito através de um forte agente redutor. Os hidretos formados são carregados da solução para a câmara de atomização (célula de quartzo) com o auxílio de uma corrente de gás inerte (TAKASE et al., 2002).

Nesta técnica o analito é separado da amostra, o que evita possíveis interferências de contaminantes, pois como apenas ele é a espécie volátil e só ele é transferido para a célula de atomização. Apresenta baixos limites de detecção, pois o sistema de introdução da amostra é muito eficiente, pode chegar a 100%, ao mesmo tempo que a densidade e a permanência de átomos no caminho óptico é grande já que o vapor atômico é confinado na célula de quartzo (TAKASE et al., 2002).

Para o elemento Hg, a técnica utilizada é muito semelhante, porém é denominada espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio, já que a atomização do Hg ocorre a frio, pois esse elemento possui alta pressão de vapor à temperatura ambiente, ou seja, a forma atômica está presente na forma de vapor à temperatura ambiente (WELZ, SPERLING, 1999).

3.3.4 Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS)

Os equipamentos contam com lâmpada de arco curto de xenônio de alta intensidade como fonte de radiação, monocromador de alta resolução e como detector dispositivo com arranjo de carga. Essas mudanças possibilitam além do alto poder de resolução, visualização do ambiente espectral da linha do analito, tornando possível, desta forma, a correção da variação da intensidade da fonte, da absorção de fundo, das interferências. Dentre as vantagens estão uma melhora na razão sinal/ruído devido à elevada intensidade da fonte de radiação, resultando em melhor precisão e limites de detecção. Como a lâmpada é multi-elementar novos elementos podem ser determinados, para os quais fontes de radiação ainda não são disponíveis (WELZ et al., 2003).

3 ARTIGO 1

MINERAL COMPOSITION OF *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* AND *Mansoa alliacea*

MINERAL COMPOSITION OF *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* AND *Mansoa alliacea*

Carolina Bolssoni Dolwitsch^a, Bruna Avila Wiethan^b, Aleksandro Nunes Colim^b, Valéria Dal Prá^a, Fernanda Brum Pires^a, Viviane Maria Schneider^c, Débora Luana Monego^b, Paulo Cícero do Nascimento^b, Denise Bohrer^{a,b}, Leandro Machado de Carvalho^{a,b}, Carine Viana^b, Osmar Alves Lameira^d e Marcelo Barcellos da Rosa^{a,b*}

^a Post-Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi Campus, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil

^b Post-Graduate Program in Chemical, Federal University of Santa Maria, Camobi Campus, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil

^c Department of Chemistry, Federal University of Santa Maria, Camobi Campus, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil

^d Embrapa Eastern Amazon Belém, PA, 66095-100, Brazil

*e-mail: marcelobdarosa@gmail.com

Abstract

This paper provides an overview of mineral composition of the medicinal species *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* and *Mansoa alliacea* collected in 2012, 2013 and 2014, using atomic absorption spectrometry as analytical technique. We intend to establish a discussion in terms of reference daily intake as well as maximum permitted intake. Both species presented low sodium levels and have potential to supply the daily need of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn and Cu, once the concentration of these minerals is above the daily recommended intake limits. *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* and *Mansoa alliacea* also showed low concentrations of metals that may be toxic above specific concentrations (Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg). Accordingly, a normal consumption of these species cannot cause intoxication. On the other hand, we should consider the mineral contribution of other foods on the daily diet.

Keywords: *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*; *Mansoa alliacea*; mineral composition; toxicology.

1. Introduction

The use of plants for therapeutic purposes, whether used for the prevention, treatment or cure of diseases, is one of the oldest forms of medical practice reported in history. According to the World Health Organization (WHO), approximately 65-80% of the population living in developing countries resort to the use of medicinal plants to address their health care needs (Veiga Junior; Pinto & Maciel, 2005).

Despite the development of synthetic pharmaceuticals, the use of herbal medicine is currently in expansion. The lack of hospital access, health checks and medication, especially for the socially disadvantaged, combined with the tradition of using products derived from medicinal plants, relying on the fact that these can be easily accessed and on the belief that, for having natural origin, they will not be noxious, lead to the use of such alternative medicine (Veiga Junior et al., 2005)

Brazil is home to an extensive area of the Amazon rainforest, which has a wide variety of native flora. Hence, the use of alternative medicine is widespread in this country. Although Amazonian plants are extensively used by the population with medical purpose, scientific knowledge on mineral composition and its influence on the phytochemical properties of the species is still modestly approached. This often leads to an unfounded consumption enabling changes on their pharmacological properties (Almeida, Lopes, Nogueira, Magalhães & de Moraes, 2002; Veiga Junior et al., 2005)

The species *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* Radlk. (Connaraceae) and *Mansoa alliacea* (Lam.) A. Gentry (Bignoniaceae) are amongst the many vegetable classes of medicinal interest. Both are extensively used by the population, but the scientific data on these species is limited. Flavonoids are a group of secondary metabolites produced by plants. They are one of the most studied class of organic compounds, due to their confirmed anti-inflammatory, anti-carcinogenic and antioxidant action (Farhan et al., 2013) Although works concerning the identification, determination and quantification of such organic constituents in these species are commonly found in literature, they do not include any information about their mineral composition (Itokawa, Matsumoto, Morita & Takeya, 1992; Rocha, Oliveira, Souza Filho, Lombardi & Braga, 2004; Zoghbi, Oliveira & Guilhon, 2009; Paracampo, 2011). *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* is an Amazon rainforest native species as well as an endemic species of Brazil. It is often administered in the form of tea, syrup, bath or an infusion composed by a mix of different plants (“garrafada”). It is popularly used to the

treatment of genitourinary infections in women, uterine bleeding, vaginal discharge, headache, gastric disorders and cough (Coelho-Ferreira, 2009)

Another Amazon rainforest native species is *Mansoa alliacea*, whose extracted compounds present anti-inflammatory (Dunstan et al., 2006), antimicrobial, antifungal, antiviral (Zoghbi et al., 2009), and antirheumatic action (Itokawa et al., 1992). It is also regularly used for the treatment of fever (Hasrat, De Backer, Vanquelin & Vlietinck, 1997) and malaria (Pérez, 2002), as analgesic for headaches (Branch & Silva, 1983) and as a condiment (Zoghbi et al., 2009).

The pharmacological properties of plants are generally related to their chemical composition, i.e. their organic and inorganic constituents (Cai, Lou, Sun & Corke, 2004). These compounds are not evenly distributed throughout the plant. Furthermore, it is known that they can vary according to many factors, such as weather conditions (rain or drought), stage of development (flowering, fruiting), plant age (phenological stage), type of soil and the contamination (presence or absence) in the environment where the plant is inserted (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

The interest on the analysis of inorganic constituents by determining the content of elements under nutritional perspective has increased over the past years. These elements can be incorporated into the organism that consumes the plant containing them, promoting health benefits or risks. Some minerals serve as cofactors in several metabolic pathways, being considered essential to human health in certain concentrations (Maiga, Diallo, Bye & Paulsen, 2005; Franco, Caetano, Caetano & Dragunski, 2011). Thus, plants containing these nutrients may be used as food supplement aiding the replacement of daily mineral needs (Almeida, Lopes, Nogueira, Magalhães & de Moraes, 2002; Lopes, Almeida, Nogueira, de Moraes & Magalhães, 2002; de Andrade, Alves & Takase, 2005; Delaporte, Guzen, Takemura & de Mello, 2005). Nevertheless, these plants may also accumulate non-essential inorganic constituents, such as toxic metals. These can alter various normal physiological functions, especially in the nervous system, liver and kidney, being also potentially carcinogenic (Aghamohammadi, Faraji, Shahdousti, Kalhor & Saleh, 2015). Whereas the population consumes these vegetables in the daily diet and for various other purposes, e.g. for their pharmacological activity, the knowledge of their mineral composition is essential. Also, the paucity of data relating to these species reinforces the need of this evaluation.

This study aims to determine the contents of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg in the species *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* e *Mansoa alliacea*. The samples were produced and collected in the experimental area of Embrapa Eastern

Amazon (Belém, PA) in the period 2012-2014. The concentrations were determined by atomic absorption spectrometry and a discussion in terms of reference daily intake as well as maximum permitted intake is established.

2. Materials and methods

2.1. Sampling

Barks of *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* and leaves of *Mansoa alliacea* were provided by Embrapa Eastern Amazon (Belém, PA, at 1 27 21 S and 48 30 14 W, at an altitude of 10 m and an average annual temperature of 30 °C). Both samples were collected during the rainy season (April/May) of 2012-2014 and were received properly prepared (dried and grounded). The authorization for access and shipment of genetic heritage components from CNPq is under the number 010529/2014-1. *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* (IAN 184389) and *Mansoa alliacea* (IAN 184394) were deposited with the Loyal Depository Herbarium Institution IAN of Embrapa Eastern Amazon Botany Laboratory (Belém, PA).

2.2. Reagents

The reagents used were of analytical grade. The bidistilled HNO₃ (65%) and the bidistilled HCl (37%) were supplied by Vetec Fine Chemicals Ltd, while the H₂O₂ (30%) was produced by Merck. The standard solutions of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg were obtained by dilution of a NIST (National Institute of Standards and Technology) stock solution of 1000 mg/L. Ultrapure water (MilliQ Millipore, Bedford, MA, USA) was used for all dilutions.

2.3 Digestion Procedures

For the digestion of the plants and the obtainment of the mineral forms of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, As e Hg, 1.0 g of sample was dissolved in 6 mL of HNO₃, 2 mL of H₂O₂ and 2 mL of HCl and heated in a block digester at approximately 100 °C, as described in EPA 3050B with some modifications. The mixture was then brought to a volume of 50 mL with ultrapure water.

The mineral forms of Cu, Cr, Ni, Pb and Cd were obtained by the addition of 2 mL of HNO₃, 4 mL of H₂O₂ and 3 mL of ultrapure water to approximately 0.5 g of sample, followed by heating on a microwave oven. The procedure consisted of two steps, based on EPA 3051. At first stage, only HNO₃ and H₂O were added to the sample and the mixture was heated up to 220 °C during 25 minutes (at 800 W) and left in this condition for 15 minutes. Next, it was cooled for 30 minutes and the vessels were opened to release the vapors. The second stage consisted on the addition of H₂O₂ to the mixture, which was taken to a temperature of 180 °C during 10 minutes (at 800 W) and left at this temperature for another 10 minutes. Subsequently, the samples were cooled for 30 minutes and diluted to 25 mL with ultrapure water.

A blank digest was carried out the same way for both procedures. The analytical parameters are shown in Table 1.

2.4 Apparatus

All glassware was cleaned by soaking in dilute HNO₃ (1%) for 24 hours and rinsed with ultrapure water prior to use. Reagents and samples were weighed in electronic analytical balance (SHIMADZU/AUY 220) with accuracy of 0.1 mg.

The mineralization of samples was held either in a block digester (CIENITEC) or in a microwave oven (Mars, CEM), with 12 high-pressure vessels (50 mL capacity) of modified polyethylene (TFM).

K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe and Mn were determined in the plants by Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS – nova 300, Analytik Jena). Cr, Ni and Pb measurements were carried out in a graphite furnace (GFAAS –ZEEnit 600, Analytik Jena). Cu and Cd were determined by High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry (HR-CS AAS – contra 700, Analytik Jena). As and Hg contents were also determined by Atomic

Absorption Spectroscopy. The former with Hydride Generation (HG AAS – nova 300, Analytik Jena) and the latter with Cold Vapor (CV AAS – nova 300, Analytik Jena).

2.5 Recovery assays

In order to verify the efficiency of digestion procedure, two aliquots of the samples were fortified with a stock solution (1000 mgL⁻¹) containing the minerals of interest. The same digestion procedure previously reported was conducted in these samples and their mineral concentrations were quantified by the appropriate technique.

3 Results and discussion

The literature review, conducted by consulting the database available in the last 30 years, revealed the existence of some works aiming the study of organic compounds present in *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* and *Mansoa alliacea* (Itokawa et al., 1992; Rocha et al., 2004; Zoghbi et al., 2009; Paracampo, 2011). However, these studies do not include information about the mineral composition of these plants.

3.1 Limits of detection of the analytical method and recovery tests

The limit of detection (LD) was calculated, for each element determined, as three times the standard deviation of ten measurements of the analytical blank divided by the slope of the calibration curve used for that element's determination. Similarly, the limit of quantification (LQ) was calculated as ten times this ratio (Table 1). The Pearson correlation coefficients (r) indicate the methods present a good linearity in the concentration ranges evaluated, i.e. $r > 0.99$, as recommended by Brazilian Health Surveillance Agency (Anvisa). Both limits of detection and quantification have proved suitable for the determination and quantification of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg in the studied species (BRASIL, 2003). As presented in Table 1, recovery test results ranged among 80 and 120%, remaining within the acceptable deviation of $\pm 20\%$. This is a confirmation of the validity of data collected in this study (BRASIL, 2003).

Table 1 – Instrumental technique used and values observed for K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg determination in samples of *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* and *Mansoa alliacea*

| Mineral | Technique | λ (nm) | r | LD (mgL ⁻¹) | LQ (mgL ⁻¹) |
|-----------|-----------|-------------------|--------|----------------------------|----------------------------|
| K | FAAS | 766.5 | 0.9973 | 0.01401 | 0.04244 |
| Na | FAAS | 589.4 | 0.9971 | 0.00203 | 0.00615 |
| Ca | FAAS | 422.7 | 0.9997 | 0.02868 | 0.08692 |
| Mg | FAAS | 285.2 | 0.9982 | 0.00434 | 0.01315 |
| Zn | FAAS | 213.9 | 0.9956 | 0.00563 | 0.01705 |
| Fe | FAAS | 248.3 | 0.9996 | 0.08212 | 0.24884 |
| Mn | FAAS | 279.5 | 0.9928 | 0.01740 | 0.05274 |
| Cu | HR-CS AAS | 324.8 | 0.9988 | 0.00013 | 0.00038 |
| Cr | GF AAS | 357.9 | 0.9991 | 0.00027 | 0.00083 |
| Ni | GF AAS | 232 | 0.9953 | 0.00302 | 0.00914 |
| As | HG AAS | 193.7 | 0.9995 | 0.00113 | 0.00343 |
| Pb | GF AAS | 283.3 | 0.9937 | 0.00023 | 0.00069 |
| Cd | HR-CS AAS | 228.8 | 0.9969 | 0.00002 | 0.00006 |
| Hg | CV AAS | 253.7 | 0.9970 | 0.00019 | 0.00058 |

FAAS, HR-CS AAS, HG AAS, GF AAS e CV AAS: Flame Atomic Absorption Spectrometry, High Resolution Continuum Source AAS, Hydride Generation AAS, Graphite Furnace AAS and Cold Vapor AAS, respectively. λ : wavelength. r: Pearson correlation coefficient. LD: limit of detection. LQ: limit of quantification.

3.2 Mineral composition over different years of collection

According to data presented in Figures 1 and 2, most elements contents did not vary considerably among the evaluated years. As expected, a difference in mineral levels was observed when comparing different elements, since these can or not be essential to the plant development.

Potassium concentrations varied for both plants, increasing by somewhat around 63% from 2012 to 2014 for *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*. For *Mansoa alliacea*, K concentration rose by approximately 30% from 2012 to 2013, remaining nearly unchanged from 2013 to 2014.

From 2012 to 2013, sodium concentration increased by 392% in *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*. This considerable variation was not observed in the next year to this plant or during the entire period for *Mansoa alliacea*, for which Na contents remained nearly constant.

An inverse relationship between levels of K and Na can be observed in both species. According to Subbarao, Wheeler, Stutte and Levine (1999) the difference between K and Na levels may be linked to a partial reduction in absorption capacity of one of them when both are present. Since these elements can replace each other in some osmotic and metabolic functions in plants, higher concentrations of K leads to lower concentrations of Na, without any harm to the vegetable (Subbarao et al., 1999; Inocencio, Carvalho & Furtini Neto, 2014).

According to de Lima, Severino, Cazetta, de Azevedo, Sofiatti and Arriel (2011) calcium presents low mobility in plants, granting higher stability in its concentrations. This was verified by the results obtained in this study, considering that Ca levels remained fairly constant in 2012 and 2014. However, in 2013, the concentration of Ca decreased by 66% in relation to the previous year to *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*, while it increased by 83%, in the same period, to *Mansoa alliacea*.

Similarly to the relationship between Na and K, an inverse trend is noticed for Zn, Fe, Cu, Mn and Ni. While a progressive increase on Zn, Fe and Cu levels is observed, there is also a progressive decrease on Mn and Ni content. Both relationships can be bound to a competitive ion absorption by the plant, where the increase in concentration of a given cation competitively inhibit the absorption of another one (Veloso, Muraoka, Malvolta & de Carvalho, 1995; Subbarao et al., 1999).

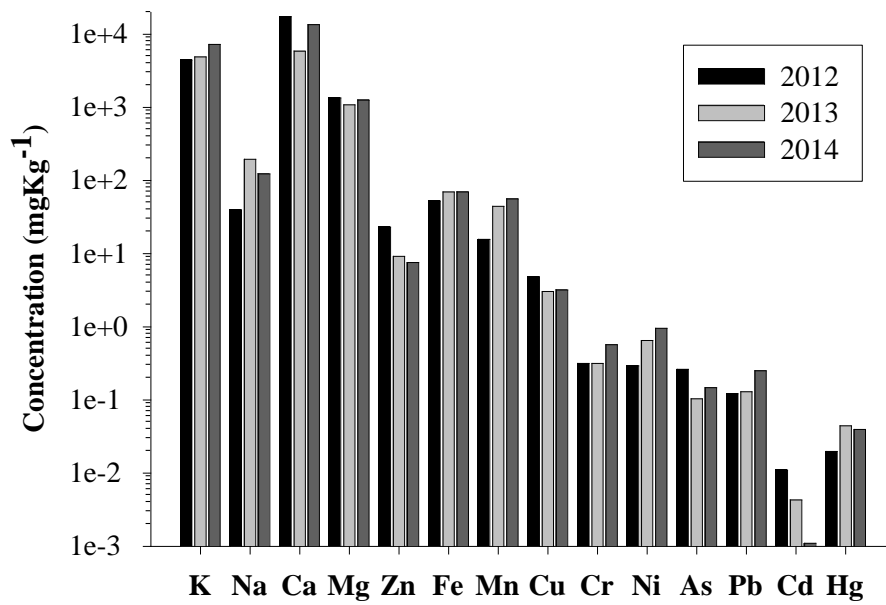
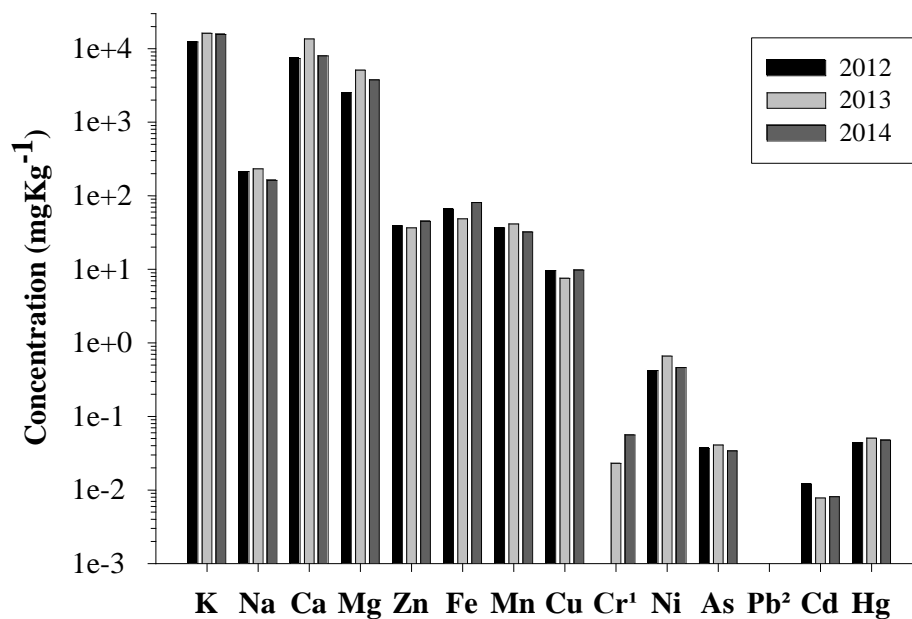


Figure 1 – Variation in mineral composition (K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Se, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg) of *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* in 2012-2014.



¹concentration < limit of detection (Cr LOD = 0.00027 mgL⁻¹)

¹concentration < limit of detection (Pb LOD = 0.00023 mgL⁻¹)

Figure 2 – Variation in mineral composition (K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Se, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg) of *Mansoa alliacea* in 2012-2014.

In the year of 2013, there was a decrease of 19% in Mg concentration for *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*. This drop was counterbalanced by an increase of 15% in the following year, so that, in the entire period, levels of this element remained nearly unchanged. In contrast, it was noticed a raise of 101% in 2013, followed by a 36% decrease in 2014 in the concentration of this element for *Mansoa alliacea*.

Levels of Fe in *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* were 32% higher in 2014 when compared to 2012. For *Mansoa alliacea*, levels of this element presented variations of 26% (decrease) in 2013 and 68% (increase) in 2014.

Zinc concentrations in *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* declined throughout the period evaluated, being in 2013 60% lower than in 2012. In *Mansoa alliacea*, on the other hand, Zn levels remained almost constant over the three years investigated.

A progressive increase in Mn content is observed for *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*, presenting a peak in 2013 with relation to 2012 (181% of increase). For *Mansoa alliacea*, Mn levels were fairly close in all three seasons, being the most marked variation a decrease of 22% from 2013 to 2014.

As previously reported by Veloso et al. (1995), the inverse relationship between Fe and Mn concentrations was observed for *Mansoa alliacea*. The concentration of Fe in 2013 – the lowest among the evaluated years – is greater than the maximum concentration of Mn (37%) in the same year.

The Cu levels in *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* presented a 34% decrease in 2013 when compared to 2012, remaining unchanged until the next year. For *Mansoa alliacea*, the harvesting season affected this element concentration, presenting a loss in 21% in 2013, which was recovered in the following year. Both plants showed lower levels of Cu when compared to other essential nutrients, such as Fe, Mn, K and Zn. Amarante, Müller, Dantas, Alves, Müller and Palheta (2010) believe this may be due to the local soil, which is notoriously poor in this mineral. Veloso et al. (1995) have studied the influence of Mn on *Pipernigrum L.* (a black pepper species), reporting an inverse relationship between the concentrations of Cu and Mn. According to them, a Cu deficiency in vegetables leads to an increase in Mn content (Veloso et al., 1995). Additionally Amarante et al. (2010) evaluated soil samples from Melgaço (a city located 290 km from the capital city Pará), detecting a low or medium variation on levels of Cu in that soil.

Nickel concentrations showed an increasing trend in *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* over the assessed period. This was also observed for *Mansoa alliacea*, in which Ni concentrations had a 57% boost in 2013, when compared to 2012 and 2014.

As showed in Figure 2, *Mansoa alliacea* presented high levels of K, Na, Ca, Mg, Mn and Ni in 2013, relative to the other years evaluated. It is possible that the plant, during the collection period of 2013, was at flowering stage, characterized by the increment on some elements concentrations (Pessanha, Viana, Carvalho & Oliveira, 2010; Lima et al., 2014)

In *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*, Cr and Pb levels nearly did not change in 2012 and 2013, increasing by 80% and 93% respectively from 2013 to 2014. The measurements for Pb in *Mansoa alliacea* were below the detection limit. Cr was also not detected in the first year of evaluation of this plant, but an increase of somewhat near 143% was detected from 2013 to 2014.

The concentrations of As in *Mansoa alliacea* remained virtually constant along the studied period, being 17% the largest difference observed. In *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*, on the other hand, there was a 60% decrease in concentrations of that element in 2013, followed by an increase of 41% in the next year.

Cadmium levels declined in 33% in 2013 in *Mansoa alliacea*, remaining almost unchanged in the following year. A different behavior was found in *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*, where Cd levels continuously decreased over the three years, being 90% lower in 2014 than in 2012.

No variations in Hg levels were detected for *Mansoa alliacea* during the studied period, while for *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*, this concentration rose about 120% in 2013 and, after that, was maintained.

By and large, the presence of toxic metals was detected throughout the analyzed period with some variation in respect to their concentrations. According to Carvalho, Macel, Mulder, Skidmore and van der Putten (2014) mineral balance variations may derive from herbivore attack. Furthermore, they may be a consequence of environmental stimuli, such as solar radiation and water availability, as these change the content of secondary metabolites.

Secondary metabolites have the ability to coordinate with some metals, modifying its bioavailability (Pessanha et al., 2010). Environmental stimuli and their influence in the biosynthesis of secondary metabolites is so far well established in literature. According to Morais (2009), water in excess may modify the opening and closing mechanism of stomata, photosynthesis, vegetable growth and leaf expansion, which can change secondary metabolites contents. Also, solar radiation promotes photosynthetic processes, providing molecules to secondary metabolites production (de Freitas, da Silva, Bezerra, de Lacerda, Pereira Filho & de Sousa, 2010)

It is well-known that constant and intense rain can promote mineral loss in leaves and flowers (Pessanha et al., 2010). Although rains in the state of Pará present these characteristics, there was no marked influence of rainfall on mineral concentration. Data on precipitation provided by the National Institute of Meteorology (INMET) indicated that rainfall remained almost constant in the months and years of study (466 mm, 500 mm and 483 mm for 2012, 2013 and 2014 respectively).

3.3 Mineral levels in studied plants

By analyzing and comparing the results in Table 2, it can be seen that both species showed high levels of K, Ca, and Mg, which indicates they can assist in supplementing diets (Almeida et al., 2002; Lopes et al., 2002; de Andrade et al., 2005; Delaporte et al., 2005). For *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* the lowest K concentration was close to the adequate intake (AI), while the maximum concentrations for this species as well as results obtained for *Mansoa alliacea* remained above the AI. Even though results are in agreement with Franco et al. (2011) it is difficult to infer whether these levels present poisoning risk since no information was found about maximum intake for this element.

Both species presented amounts of Ca and Mg above the Tolerable Upper Intake Level (UL). Thus, the excessive consumption of these plants may favor the body accumulation of these minerals. However, results for these elements are similar to the ones demonstrated by Diniz, Dantas Filho, Müller, Fernandes and Palheta (2013) who determined them in Amazonian herbs, including a species of Bignoniaceae family. Also, they showed levels of Na below the AI, indicating that consumption of these plants contributes little to supply its daily requirement.

Connarus perrottetii var. *angustifolius* presented Zn concentration close to the Dietary Reference Intake (DRI), without exceeding the maximum value. *Mansoa alliacea* expressed slightly larger quantities of Zn than maximum recommended daily intake. These concentrations are similar to that reported by Maiga et al. (2005) in medicinal plants of Mali.

Table 2 – Dietary Reference Intake (DRI) or Adequate Intake (AI) values and Tolerable Upper Intake Level (UL) to macro-minerals, micro-minerals and toxic elements. Concentrations in samples of *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* and *Mansoa alliacea*

| Minerals | DRI ou AI ¹ (mg) | | UL (mg) | | Concentrations in samples (mg Kg ⁻¹) | | | |
|-----------------------|-----------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--|--------|------------------------|-------------------|
| | Females | Males | Females | Males | <i>Connarus perrottetii</i> var. <i>angustifolius</i> | | <i>Mansoa alliacea</i> | |
| | | | | | min. | máx. | min. | máx. |
| K¹ | 4700 ⁴ | 4700 ⁴ | ND ² | ND ² | 4440.1 | 7250.0 | 12329 | 16117 |
| Na¹ | 1500 ⁴ | 1500 ⁴ | 2300 ⁴ | 2300 ⁴ | 39.695 | 195.48 | 161.77 | 233.3 |
| Ca¹ | 1000 ⁴ | 1000 ⁴ | 2500 ⁴ | 2500 ⁴ | 5857.4 | 17371 | 8035.4 | 13524 |
| Mg | 400 ⁴ | 310 ⁴ | 350 ⁴ | 350 ⁴ | 1085.1 | 1345.4 | 2535.0 | 3751.8 |
| Zn | 11 ⁴ | 8 ⁴ | 40 ⁴ | 40 ⁴ | 7.5680 | 23.110 | 3.6665 | 44.833 |
| Fe | 8 ⁴ | 18 ⁴ | 45 ⁴ | 45 ⁴ | 52.516 | 69.625 | 48.477 | 81.037 |
| Mn¹ | 2.3 ⁴ | 1.8 ⁴ | 11 ⁴ | 11 ⁴ | 15.754 | 56.003 | 32.161 | 41.253 |
| Cu | 0.9 ⁴ | 0.9 ⁴ | 10 ⁴ | 10 ⁴ | 3.0400 | 4.8200 | 7.5400 | 9.7800 |
| Cr¹ | 0.0035 ⁴ | 0.0025 ⁴ | ND ² | ND ² | 0.3170 | 0.5710 | 0.0230 | 0.0560 |
| Ni | ND ² | ND ² | 1.0 ⁴ | 1.0 ⁴ | 0.294 | 0.9590 | 0.4210 | 0.6610 |
| As | ND ² | ND ² | 0.15 ⁵ | 0.15 ⁵ | 0.104 | 0.2630 | 0 | 0.0010 |
| Cd¹ | 0.008 ⁵ | 0.008 ⁵ | 0.07 ⁵ | 0.07 ⁵ | 0.0011 | 0.0110 | 0.0080 | 0.0120 |
| Pb | ND ² | ND ² | 0.245 ⁵ | 0.245 ⁵ | 0.122 | 0.2510 | < LD ³ | < LD ³ |
| Hg | ND ² | ND ² | 0.05 ⁵ | 0.05 ⁵ | 0.02 | 0.0440 | 0.0440 | 0.050 |

Values related to dietary reference intake for youths/adults (19-50 years old).

¹AI: values of adequate intake, which do not correspond to dietary reference intake (DRI).

²ND: not established.

³LD: Detection limit for Pb (0.00023 mgL⁻¹).

⁴ Values are taken from Institute of Medicine.

⁵ Values are taken from WHO.

Levels of Mn and Fe were rather high in both plants, exceeding the maximum daily intake. Plants investigated can, therefore, be a great source of these minerals, as previously reported by Gupta and Gupta (2013). Nevertheless, attention should be paid to the regular consumption of such vegetables, as even essential minerals may, when in excess, be toxic. Both plants exhibited concentrations of Cu above the recommended daily requirement, but not exceeding the maximum intake level.

Chromium concentrations in *Mansoa alliacea* was very close to the AI value. In *Connarus perrottetii* var. *angustifolius*, this metal content was slightly above the amount

limited by legislation, but did not exceed the tolerable upper intake. Concentrations of Ni and Hg for both plants were considerably close to UL while Cd levels were well below the maximum recommended intake, indicating that normal consumption of such plants can not cause poisoning by these metals. Nonetheless, contribution of other diet foods should be also considered in this analysis. *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* presented maximum levels of As (0.263 mgkg^{-1}) and Pb (0.251 mgkg^{-1}) greater than the maximum intake values established in literature (0.15 mgkg^{-1} for As and 0.205 mgkg^{-1} for Pb). This data may seem alarming at first sight, but it must be considered that these values are present in 1 kg of plant, which is hardly daily consumed. In addition, values found are below the maximum limit permitted by Anvisa for teas and derivatives (1 mgkg^{-1}) (Brasil, 1965). Anvisa does not settle a maximum permitted content of Pb in this matrix, but Pb concentrations determined in this study are consistent with other works concerning medicinal plants (Lin & Jiang, 2013). The concentration of As in *Mansoa alliacea* is lower than the UL and, for the same plant, Pb could not be detected, indicating that the contribution of these minerals on the diet through this plant would be very small.

Although toxic metals concentrations found in these samples are considered small, such information require attention, due to the toxicology of these elements. Possible contamination of plants studied by the toxic elements determined may be related to human activities.

4 Conclusion

This paper provides an overview on mineral composition of *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* and *Mansoa alliacea* in three different years.

Both plants present great potential to enhance the ingestion of Ca, Mg, Zn, Cu, Mn and Fe, since these minerals are in concentrations that exceed the daily recommended intake values. Also, levels of Na are low in these species, eliminating the risk of an excessive intake of this element by consumption of such plants.

Connarus perrottetii var. *angustifolius* and *Mansoa alliacea* showed low concentrations of metals (Cr, Ni, Cd, Hg, As and Pb), indicating that only the consumption of these plants is not capable of causing poisoning by these elements. However, mineral contribution from other foods consumed daily should be considered, as well as the accumulation of these metals by the organism.

Dependence of concentration with year of collection could not be verified for most elements evaluated. However, variation on contents of Na, Mg, Mn, Cr and Hg could be clearly observed over the period assessed, indicating that such relationship exists.

Considering that the elements present in these plants can vary according to the environment where they are cultivated, further studies on the mineral composition of such species cultivated at other locations are necessary.

Acknowledgments

To the National Council of Scientific and Technological Development – CNPq (Process 405806/2013-2) for the fellowships granted to Carolina Bolssoni Dolwitsch, Alessandro Nunes Colim, Fernanda Brum Pires and Viviane Maria Schneider, as well as for the financial support. We also wish to thank to Paola Rampelotto Ziani for the technical support in the use of the block digester.

5 References

- Aghamohammadi, M., Faraji, M., Shahdousti, P., Kalhor, H., Saleh, A. (2015). Trace determination of lead, chromium and cadmium in herbal medicines using ultrasound-assisted emulsification microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Phytochemical Analysis*, 26(3), 209-214.
- Almeida, M. M. B., Lopes, M. F. G., Nogueira, C. M. D., Magalhães, C. E. C., de Moraes, N. M. T. (2002). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 22(1), 94-97.
- Amarante C. B., Müller, R. C. S., Dantas K. G. F., Alves C. N., Müller, A. H., Palheta, D. C. (2010). Composição química e valor nutricional para grandes herbívoros das folhas e frutos de aninga (*Montrichardia linifera*, Araceae). *Acta Amazonica*, 40(4), 729-736.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (1998). Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos. Portaria no. 685, 27 de agosto de 1998. URL <http://portal.anvisa.gov.br/>. Accessed 28.03.2015.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2003). Resolução RE N° 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de junho de 2003. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Accessed 28.03.2015.
- Branch, L. C., Silva M. F. (1983). Folk medicine of Alter do Chão, Pará, Brasil. *Acta Amazonica*, 13,737-797.
- Cai, Y., Lou, Q., Sun, M., Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74(17), 2157-2184.
- Carvalho, S., Macel, M., Mulder, P. P. J., Skidmore, A., van der Putten, W. H. (2014). Chemical variation in *Jacobaea vulgaris* is influenced by the interaction of season and vegetation successional stage. *Phytochemistry*, 99, 86-94.

Coelho-Ferreira, M. (2009). Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Maruda, Pará State (Brazil). *Journal of Ethnopharmacology*, 126(1), 159-175.

de Andrade, E. C. B., Alves, S. P., Takase, I. (2005). Avaliação do uso de ervas medicinais como suplemento nutricional de ferro, cobre e zinco. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25, 591-596.

de Freitas, A. S., da Silva, A. R. A., Bezerra, F. M. L., de Lacerda, C. F., Pereira Filho, J. V., de Sousa, G. G. (2011). Produção de matéria seca e trocas gasosas em cultivares de mamoneira sob níveis de irrigação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 15(11), 1168-1174.

de Lima, R. L. S., Severino, L. S., Cazetta, J. O., de Azevedo, C. A. V., Sofiatti, V., Arriel, N. H. C. (2011). Redistribuição de nutrientes em folhas de pinhão-manso entre estádios fenológicos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 15(11), 1175-1179.

Delaporte, R. H., Guzen, K. P., Takemura, O. S., de Mello, J. C. P. (2005). Estudo mineral das espécies vegetais *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze e *Bouchea fluminensis* (Vell) Mold. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15, 133-136.

Diniz, V. W. B., Dantas Filho, H. A., Müller, R. C. S., Fernandes, K. G., Palheta, D. C. (2013). Classificação multivariada de ervas medicinais da região amazônica e suas infusões de acordo com sua composição mineral. *Química Nova*, 36(2), 257-261.

Dunstan, C. A., Noreen, Y., Serrano, G., Cox, P. A., Perera, P., Bohlin L. (1997). Evaluation of some Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rat ear oedema assays. *Journal of Ethnopharmacology*, 57(1), 35-56.

Farhan, H., Rammal, H., Hijazi, A., Daher, A., Reda, M., Annan, H., et al. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of a Lebanese plant *Euphorbia macroclada* schyzoceras. *Asian Pacific journal of Tropical Biomedicine*, 3(7), 542-548.

Franco, M. J., Caetano, I. C. S., Caetano, J., Dragunski, D. C. (2011). Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama-PR. *Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR*, 15(2), 121-127.

Gobbo-Neto, L., Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, 30(2), 374-381.

Gupta, J., Gupta, A. (2013). Studies of Trace Metals in the Leaves of *Phyllanthus emblica* (L). *Oriental Journal of Chemistry*, 29(4), 1547-1551.

Hasrat J. A., De Backer J. P., Vanquelin G., Vlietinck A. J. (1997). Medicinal plants in Suriname: screening of plant extracts for receptor binding activity. *Phytomedicine*, 4, 59-65.

INMET (Instituto Nacional de Meteorologia). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. URL <http://www.inmet.gov.br/>. Accessed 15.03.2015.

Inocencio, M. F., Carvalho, J. G., Furtini Neto, A. E. (2014). Potássio, sódio e crescimento inicial de espécies florestais sob substituição de potássio por sódio. *Revista Árvore*, 38(1), 113-123.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes. Washington (DC): National Academy Press; 2005. URL: www.iom.edu. Accessed 10.03.15.

Itokawa, H., Matsumoto, K., Morita, H., Takeya, K. (1992). Cytotoxic naphthoquinones from *Mansoa alliacea*. *Phytochemistry*, 31, 1061-1062.

Lima, C. N. F., Valero, T. F., Leite, N. F., Alencar, L. B. B., Matias, E. F. F., Kerntopf, M. R. et al. (2014). Ação protetora de *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff. contra a toxicidade do cloreto de mercúrio em *Escherichia coli*. *Revista Cubana de Plantas Medicinai*s, 19(3), 179-188.

Lin, M. L., Jiang, S. J. (2013). Determination of As, Cd, Hg and Pb in herbs using slurry sampling electrothermal vaporisation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chemistry*, 141, 2158-2162.

Lopes, M. F. G., Almeida, M. M. B., Nogueira, C. M. D., de Moraes, N. M. T., Magalhães, C. E. C. (2002). Estudo mineral de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 12, 115-116.

Maiga, A., Diallo, D., Bye, R., Paulsen, B. S. (2005). Determination of Some Toxic and Essential Metal Ions in Medicinal and Edible Plants from Mali. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2316-2321.

Morais, L. A. S. (2009). Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira*, 27, 4050-4063.

Paracampo, N. E. N. P. (2011). *Connarus perrottetii* var. *angustifolius* Radlk. (Connaraceae): tradicionalmente utilizada como barbatimão no Pará. *Embrapa Amazônia Oriental*, 376.

Pérez D. (2002). Etnobotânica medicinal y biocidas para malaria en la región Ucayali. *Folia Amazonica*, 13, 87-108.

Pessanha, P.G.O., Viana, A. P., Carvalho, A. J. C., Oliveira, J. G. (2010). Teores foliares de nutrientes em doze genótipos de videira. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 31(4), 881-888.

Rocha, A. D., de Oliveira, A. B., de Souza Filho, J. D., Lombardi, J. A., Braga F. C. (2004). Antifungal constituents of *Clytostoma ramentaceum* and *Mansoa hirsuta*. *Phytotherapy Research*, 18, 463-467.

Subbarao, G. V., Wheeler, R. M., Stutte, G. W., Levine, L. H. (1999). How far can sodium substitute for potassium in red beet? *Journal of Plant Nutrition*, 22(11), 1745-1761.

Veiga Junior, V. F., Pinto, A. C., Maciel, M. A. M. (2005). Plantas medicinais: cura segura. *Química Nova*, 28, 519-528.

Veloso, C. A. C., Muraoka, T., Malvolta, E., de Carvalho J. G. (1995). Influência do manganês sobre a nutrição mineral e crescimento da pimenteira do reino (*Piper nigrum*, L.). *Scientia Agricola*, 52(2), 376-383.

WHO, World Health Organization (2011). Evaluation of certain contaminants in food: seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. n°. 959/2011. URL: http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_959_eng.pdf. Accessed: 10.04.2015.

Zoghbi, M. G. B., Oliveira, J., Guilhon, G. M. S. P. (2009). The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds. *Revista Brasileira. Farmacognosia*, 19, 795-804.

5 ARTIGO 2

***Cecropia* AND *Bauhinia* SPECIES: VARIATION OF MINERAL COMPOSITION AND
NUTRITIONAL IMPLICATIONS FOR DIFFERENT SAMPLING YEARS**

***Cecropia* AND *Bauhinia* SPECIES: VARIATION OF MINERAL COMPOSITION AND NUTRITIONAL IMPLICATIONS FOR DIFFERENT SAMPLING YEARS**

Carolina Bolssoni Dolwitsch^a, Bruna Avila Wiethan^b, Aleksandro Nunes Colim^b, Valéria Dal Prá^a, Fernanda Brum Pires^a, Viviane Maria Schneider^c, Leandro Machado de Carvalho^{a,b}, Carine Viana^b, Osmar Lameira^d e Marcelo Barcellos da Rosa^{a,b*}

^a Post-Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Santa Maria, Camobi Campus, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil.

^b Post-Graduate Program in Chemical, Federal University of Santa Maria, Camobi Campus, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil

^c Department of Chemistry, Federal University of Santa Maria, Camobi Campus, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil.

^d Embrapa Eastern Amazon Belém, PA, 66095-100, Brazil.

*e-mail: marcelobdarosa@gmail.com

ABSTRACT

This work provides an overview about mineral composition of the medicinal species *Cecropia palmata*, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata* and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* collected in 2012, 2013 and 2014, using atomic absorption spectrometry as analytical technique. A discussion in terms of reference daily intake and maximum permitted intake was established. All species presented low sodium level and have potential to supply the daily needs of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, once the concentration of these minerals are above the daily recommended intake limits. All four species also showed low concentrations of metals that might be toxic above certain concentrations (Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg). Thereafter, a normal consumption of these species cannot cause intoxication. On the other hand, we must consider the mineral contribution of other foods in the daily diet.

Key words: *Cecropia palmata*, *Cecropia obtuse*, *Bauhinia variegata* and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava*; mineral composition; toxicology.

1. INTRODUCTION

Humankind has been using plants as health resort since its beginnings. By that time, such practice was the only way to treat diseases. Today, even with the industrialization of medicine, the use of medicinal plants is still one of the most important therapeutic resources in many Brazilian regions. Economics and cultural issues, along with the belief that natural products do not negatively affect health, are the factors that contribute most to the employment of said alternative medicine.

In Brazil, plants are widely used in medicine mainly because of the existence of the Amazon rainforest, which has the biggest flora diversity on the planet. Despite the extensive popular use of Brazilian plants, scientific knowledge about their chemical composition is limited, which often results in consumption with little or no evidence of pharmacological properties.

Most of the recent studies about medicinal plants approach their organic composition, in order to establish their pharmacological properties, and thereby, there are only few works about their mineral composition. However, the knowledge about the elemental composition of plant species is necessary since they may interfere with the therapeutic action, be toxic or present nutritional value. Furthermore, the chemical composition of herbaceous plants may vary according to many factors, such as weather conditions, type of soil, anthropic actions, stage of development, plant age and plant organ.

Metals may interfere on the pharmacological action through modification of the antioxidant activity, resulting from their complexation with flavonoids (KOSTYUK et al., 2007; PEREIRA et al., 2007). The toxicity of many components is due primarily to the fact that they interact with enzymes and cell membranes, affecting the normal functioning of the cell and numerous physiological processes (MOREIRA & MOREIRA, 2004). Some minerals may be used to replace mineral needs due to their ability to serve as cofactors in various biological pathways that contribute to the proper functioning of the organism.

Cecropia palmata, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata*, and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* are amongst the numerous species of medicinal interest. Such plants are extensively used by the population, but the scientific data on these species is scarce. Some studies report the chemical composition of the aforementioned species (SILVA et al., 2007; RAMOS et al., 2013), however, the ones involving mineral composition and its relationship to weather conditions are limited.

Plants belonging to the *Cecropia* genus are used to treat cough, bronchitis, high blood pressure and heart problems (Ramos et al., 2013). In addition, there is information about antirheumatic, anti-inflammatory, soothing and antioxidant activities (FREITAS, 2006; SILVA et al., 2007).

Regarding the *Bauhinia* genus, it was found that plants present antibacterial (Ahmed, 2012), anticarcinogenic (SONAM et al., 2009), antioxidant (RAJANI and ASHOK, 2009), anti-inflammatory (KOTESWARA et al., 2008) and hypolipidemic (RAJANI & ASHOK, 2009).

Whereas the population incorporates these plants in its diet, for various purposes, the knowledge about their mineral composition is crucial. This rises from the paucity of data in the literature about the mentioned species, as well as from the fact that these elements are incorporated in the human diet under nutritional and pharmacological aspects.

Given this scenario, this work aims to determine the concentrations of potassium (K), sodium (Na), calcium (Ca), magnesium (Mg), zinc (Zn), iron (Fe), manganese (Mn), copper (Cu), chromium (Cr), nickel (Ni), arsenic (As), lead (Pb), cadmium (Cd) and mercury (Hg) present in *Cecropia palmata*, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata* and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava*. The samples were produced and collected in the experimental area of Embrapa Eastern Amazon (Belém, PA) in the period of 2012-2014. The concentrations were determined by atomic absorption spectrometry and a discussion in terms of reference daily intake and proper intake quantity was established.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Reagents

For the digestion of the samples and preparation of the standard solutions, bidistilled HNO₃ (65%) and bidistilled HCl (37%), both supplied by Vetec Fine Chemicals Ltd, were used. The H₂O₂ (30%) used was produced by Merck. All these reagents were of analytical grade. The standard solutions of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg were obtained by dilution of a stock solution of 1000 mg/L from NIST (National Institute of Standards and Technology). Ultrapure water (MilliQ, Millipore, Bedford, MA, USA) was used for all dilutions.

2.2. Apparatus

All glassware was cleaned by soaking in diluted HNO₃ (1%) for 24 hours.

The samples were weighed in an electronic analytical balance (SHIMADZU/AUY 220) with accuracy of ± 0.0001 g.

The sample mineralization for K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn and As was held in block digester (CIENITEC). For Cu, Cr, Ni, Pb and Cd the process was held in a microwave oven (Mars, CEM) with 12 high-pressure vessels of modified polyethylene (TFM) with 50 mL capacity.

The concentrations of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe and Mn were determined via Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS – novAA 300, Analytik Jena); Cr, Ni and Pb measurements were carried out by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GF AAS –ZEE nit 600, Analytik Jena); As and Se were analyzed via Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (HG AAS – nova 300, Analytik Jena); Cu and Cd were determined by High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry (HR-CS AAS – contra 700, Analytik Jena); and Hg by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry (CV AAS – nova 300, Analytik Jena).

2.3. Sampling

The leaves of *Cecropia palmata*, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata* and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* were collected. Both samples were collected during the rainy season (April/May) of 2012, 2013 and 2014, and were provided by Embrapa Eastern Amazon (Belém, PA, at 1 27 21 S and 48 30 14 W, at an altitude of 10 m and an average annual temperature of 30 °C). All samples were received properly prepared (dried and grounded).

2.3.1 Digestion (sample mineralization)

The decomposition of organic matter for obtaining the mineral to be analyzed was held by acid digestion. For K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, As and Hg, approximately 1.0 g of plant tissue was digested with 6 mL of HNO₃, 2 mL of H₂O₂ and 2 mL of HCl in a block digester at a temperature of approximately 100 °C, according to EPA 3050B with some

modifications. After digestion, the samples were diluted to 50 mL in volumetric flasks. For Cu, Cr, Ni, Pb and Cd, pre-treatment consisted of the digestion of approximately 0.5 g of plant tissue with 2 mL of HNO₃, 3 mL of ultrapure water and a subsequent addition of 4 mL of H₂O₂ in a microwave system. Samples were then diluted to 25 mL in volumetric flasks. The microwave-assisted acid digestion program consisted of three stages (Table 1) based on EPA 3051A.

Table 1 – Microwave-assisted acid digestion program.

| Stage | Reagents | Microwave Potency (W) | Ramp time (min) | Temperature (Max) (°C) | Hold time (min) |
|-------|--|-----------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| 1 | HNO ₃ + H ₂ O | 800 | 25 | 220 | 15 |
| 2 | - | - | - | - | 30 |
| 3 | H ₂ O ₂ | 800 | 10 | 180 | 10 |

2.4. Recovery Assays

In order to verify the efficiency of the used digestion procedure, two aliquots of the samples were fortified, one with a stock solution (1000 mg/L) of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Se, As and Hg, and the other one with a stock solution (1000mg/L) of Cu, Cr, Ni, Pb and Cd. Both samples were submitted to the same digestion procedures previously related and their mineral concentration was quantified by the appropriate technique. A blank digest was carried out the same way for both procedures. Table 2 shows the parameters used in each technique for the quantification of the studied minerals.

Table 2 – Analytical parameters for the determination of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg in samples of *Cecropia palmata*, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata* and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava*.

| Element | Technique | λ (nm) | r | LOD (mg.L ⁻¹) | LOQ (mg.L ⁻¹) |
|-----------|-----------|-------------------|--------|------------------------------|------------------------------|
| K | FAAS | 766.5 | 0.9947 | 0.01401 | 0.04244 |
| Na | FAAS | 589.4 | 0.9943 | 0.00203 | 0.00615 |
| Ca | FAAS | 422.7 | 0.9995 | 0.02868 | 0.08692 |
| Mg | FAAS | 285.2 | 0.9965 | 0.00434 | 0.01315 |
| Zn | FAAS | 213.9 | 0.9912 | 0.00563 | 0.01705 |
| Fe | FAAS | 248.3 | 0.9993 | 0.08212 | 0.24884 |
| Mn | FAAS | 279.5 | 0.9857 | 0.01740 | 0.05274 |
| Cu | HR-CS AAS | 324.8 | 0.9976 | 0.00013 | 0.00038 |
| Cr | GF AAS | 357.9 | 0.9983 | 0.00027 | 0.00083 |
| Ni | GF AAS | 232 | 0.9906 | 0.00302 | 0.00914 |
| As | HG AAS | 193.7 | 0.9990 | 0.00113 | 0.00343 |
| Pb | GF AAS | 283.3 | 0.9874 | 0.00023 | 0.00069 |
| Cd | HR-CS AAS | 228.8 | 0.9939 | 0.00002 | 0.00006 |
| Hg | CV AAS | 253.7 | 0.9940 | 0.00019 | 0.00058 |

FAAS, HR-CS AAS, HG AAS, GF AAS and **CV AAS**: Flame Atomic Absorption Spectrometry, High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry, Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry, Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry and Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. λ : wavelength. **r**: Pearson correlation coefficient. **LOD**: limit of detection. **LOQ**: limit of quantification.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Mineral composition over different years of collection

Given the conditions in which this study was held and according to data shown in Figures 1, 2, 3 and 4, it is possible to observe that, in a general way, the elements do not seem to vary significantly amongst the evaluated years. As expected, a difference in mineral levels was observed when comparing different elements, since these can or not be essential to the plant development.

Concentrations of K varied for all four plants. For *Bauhinia variegata*, it has diminished around 27% from 2012 to 2014. For *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava*, K concentration also decreased around 25% from 2013 to 2014. Regarding *Cecropia obtusa* and *Cecropia palmata*, K levels have increased 121% from 2013 to 2014 and 37% from 2012 to 2014, respectively. Na concentration for *Bauhinia variegata* has remained nearly constant between 2012 and 2013, presenting a decrease of 47% from 2013 to 2014. *Cecropia obtusa* has presented similar behavior with a higher decrease of 375% instead. For *Cecropia palmata*, sodium concentrations varied very little in the period of study, being an increase of 27% from 2012 to 2013 the greater variation observed. Na levels in *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* have shown a great increase of around 850% from 2012 to 2014.

An inverse relationship between levels of K and Na can be observed in studied species. According to Subbarao et al. (1999), the difference between K and Na levels may be linked to a partial reduction in absorption capacity of one of them when both are present. Since these elements can replace each other in some osmotic and metabolic functions in plants, higher concentrations of K leads to lower concentrations of Na, without any harm to the vegetable (SUBBARAO et al., 1999; ASHLEY, GRANT & GRABOV, 2005; INOCENCIO, CARVALHO & FURTINI NETO, 2014). According to Faquin, Ca presents low mobility in plants, granting higher stability in its concentrations (SILVA, SANTOS & PAIVA, 2008; BASTOS et al., 1999; FAQUIN, 2005). This was verified by the results obtained in this study, where the Ca levels remained fairly constant. *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* showed the most marked variation in calcium levels. During all three years of collection, K concentrations did not present significant variations for the studied species, except for *Cecropia obtusa*, which had a raise of 107% from 2013 to 2014.

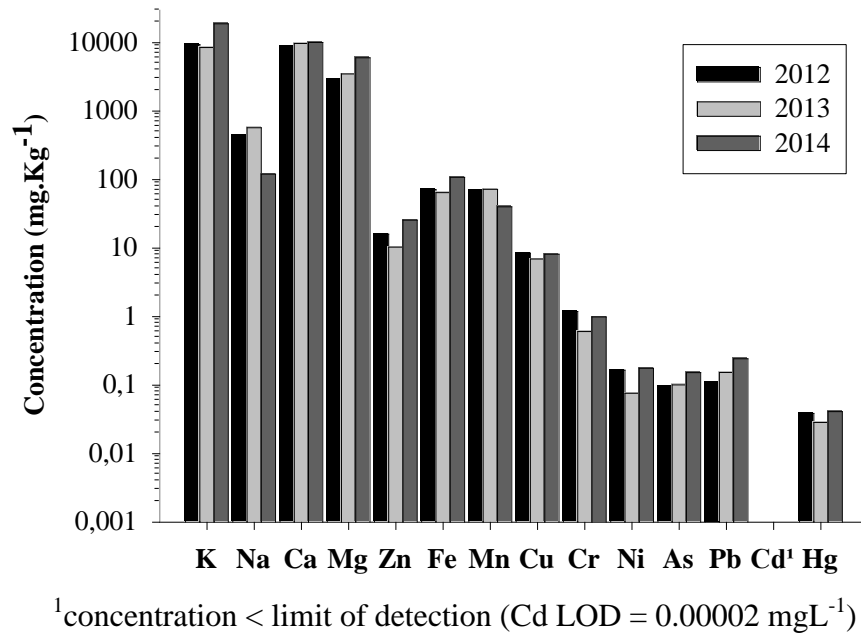


Figure 1 – Variation in mineral composition of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg (from 2012 to 2014) for *Cecropia obtusa*.

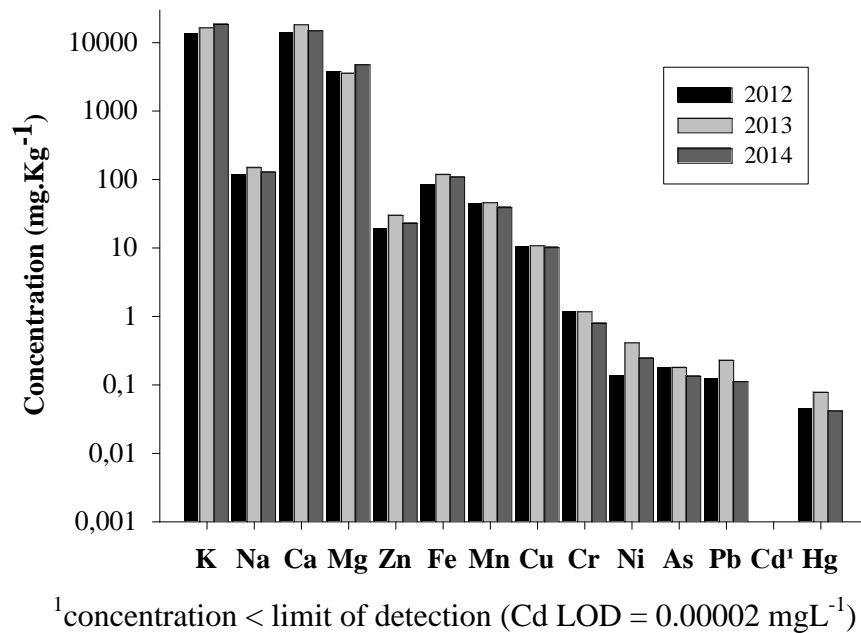
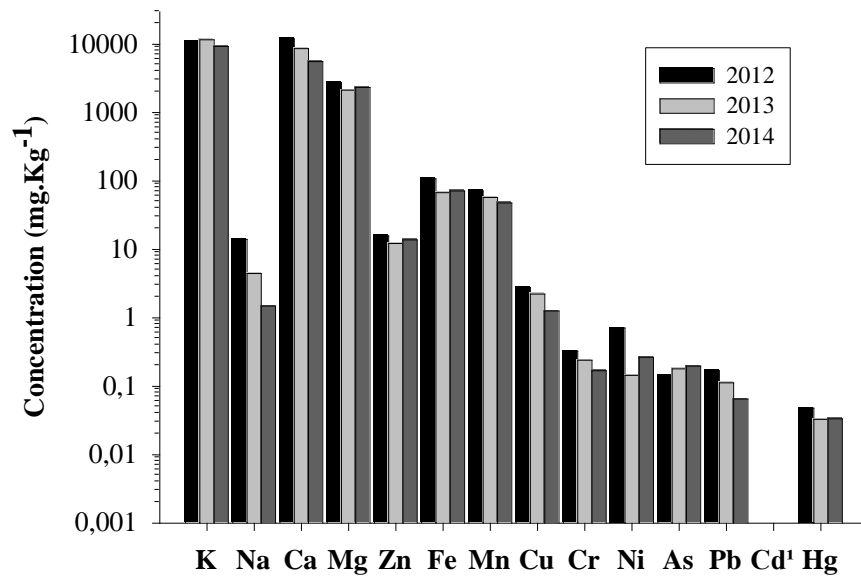
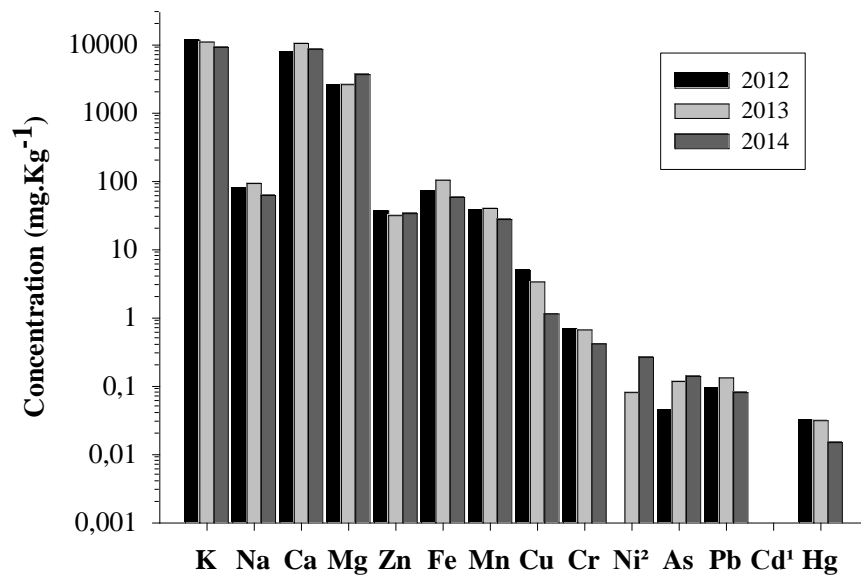


Figure 2 – Variation in mineral composition of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg (from 2012 to 2014) for *Cecropia palmata*.



¹concentration < limit of detection (Cd LOD = 0.00002 mgL⁻¹)

Figure 3 – Variation in mineral composition of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg (from 2012 to 2014) for *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava*.



¹concentration < limit of detection (Cd LOD = 0.00002 mgL⁻¹)

Figure 4 – Variation in mineral composition of K, Na, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni, As, Pb, Cd and Hg (from 2012 to 2014) for *Bauhinia variegata*.

Concerning Fe concentrations, it is possible to state that the results obtained for all species, in all three years of study, did not present an expressive variation. *Bauhinia variegata* has shown the greater concentration in the second year of collection, around 78% higher than in the two other years. *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* exhibited the peak concentration for this mineral in 2012, around 59% greater than in the two next years. Fe concentration in *Cecropia obtusa* rose about 63% from 2013 to 2014. On the other hand, *Cecropia palmata* presented the lowest Fe concentration in 2012, around 41% less than in 2013. Zn levels in *Bauhinia variegata* and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* had the same behavior: greater values in 2012, followed by a decrease in 2013 and then by a slight increase in 2014, without significant variations. For *Cecropia obtusa*, Zn concentrations reached the lowest values in 2013, 145% less than in 2014. *Cecropia palmata* has shown a peak in Zn levels in 2013 (60% greater than 2012).

Regarding Mn levels, *Cecropia obtusa* and *Cecropia palmata* presented fairly constant concentrations of this element in the first two years of collection, followed by a decrease in the third. For *Bauhinia variegata*, Mn levels were 45% higher in 2013 than in 2014. *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* presented a variation of 49% (decrease) from 2012 to 2014. Both species of *Cecropia* had their Cu concentrations plateaued throughout the three years studied. However, for *Bauhinia* species, the year of collection seemed to affect this metal levels. *Bauhinia variegata* had a 300% variation (decrease) from 2012 to 2014, while for *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* this difference was only about 120%. In all plants investigated, copper levels were the lowest when compared to other micronutrients such as Fe, Mn and Zn. According to Amarante et al. (2009) this may be due to the local soil, which is notoriously poor in this mineral.

It may be seen that there was significant variations in the concentrations of essential minerals. According to Inocencio; Carvalho; Furtini Neto (2014); Faquin (2005) and Veloso et al. (1995) this oscillations may be related to the absorption competitiveness of ions by the plant, where the rise in concentration of a given cation inhibits the absorption of another. Besides, there is the possibility that the plants would be at a different stage of development for different years of collection, such as flowering, characterized by the increase of some elements (PESSANHA et al., 2010; HERNANDES et al., 2011; LIMA et al., 2014).

The concentrations of Ni varied considerably for all species. For *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* there was a decline of 390% in Ni levels from 2012 to 2013. *Cecropia obtusa* showed the lowest concentration of this metal in 2013, with a follow raise of 130% in 2014. *Cecropia palmata*, on the other hand, presented a peak in 2013: 210% and 67% greater

than 2012 and 2014, respectively. In 2012, it was not possible to determine the concentration of Ni for *Bauhinia variegata* because it was below the limit of detection (0.00302 mgL^{-1}), but from 2013 to 2014 there was an increase of 230% in levels of this metal.

For all species, Pb concentrations were influenced by the year of collection. *Cecropia obtusa* showed increasing levels of Pb through years evaluated, with a difference of 199% from 2012 to 2014. On the other hand, *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* presented declining levels in the same period (161% decrease). *Bauhinia variegata* and *Cecropia palmata* showed peak concentrations in 2013. For the following year, it was detected a decline of around 64% for the former and 105% for the latter. Now regarding the concentrations of Cr, *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* and *Bauhinia variegata* showed similar conduct, which consisted of a decrease in levels of this metal along the years studied: they presented reductions of 63% and 94%, respectively. For As levels, *Cecropia obtusa*, *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* and *Bauhinia variegata* presented analogous behaviors, characterized by a raise in concentration (34%, 37% and 211% respectively) from 2012 to 2014. Differently, for *Cecropia palmata* the peak concentration was observed in 2012. It was not possible to detect Cd concentrations for any of the species, since the values were below the limit of detection (0.00002 mgL^{-1}). Hg concentrations for *Cecropia palmata* and *Cecropia obtusa* remained stable between 2012 and 2014, with increases of 87% and 44% respectively, in 2013. The most marked variation of this element in *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* was detected in 2012, followed by a decrease of about 46% in the next year, remaining constant in 2014. *Bauhinia variegata* presented roughly constant Hg concentrations from 2012 to 2013, with a 110% decrease for the next year.

By and large, significant variations in metals concentration for all species in the sampling years were verified. According to Carvalho et al (2014), it might have happened due to herbivorous attacks. Besides, such oscillations may be arising from environmental stimuli, since they may alter secondary metabolites activity, which have the ability to coordinate to some metals, modifying their bioavailability (MORAIS, 2009).

Regarding the rainfall influence, it is known that constant and heavy rains may favor mineral losses in soils and plants (MORAIS, 2009). Although rains in the state of Pará present this characteristic, there was no marked influence of rainfall on metals concentration. Data on precipitation provided by the National Institute of Meteorology (INMET) indicated that rainfall remained almost constant in the months and years of study (466 mm, 500 mm and 483 mm for 2012, 2013 and 2014 respectively).

3.2 Mineral levels in studied plants

From data shown in Table 3, it is noticeable that *Bauhinia variegata* e *Bauhiina variegata* L. var. *alboflava* present similar and high levels of K, Ca e Mg. The same behavior is observed for *Cecropia obtuse* and *Cecropia palmate*, suggesting that these species may assist in dietary complementation, what was expected since these elements are macronutrients. The minimum concentrations of K found for the four species are above the adequate intake (AI). However, it is not possible to infer whether these concentrations might cause harmful health effects, since the tolerable upper limits (UL) for this element is not related (to our knowledge) in literature so far. Furthermore, our results are similar to those reported by Pinto et al. (2005), who determined several minerals, including K, in *Bauhinia variegata* seeds. The four species showed levels of Ca and Mg above the UL, suggesting that an excessive consumption of these plants may favor the accumulation of these metals in organism. The results for Ca are in agreement with the ones determined by Diniz et al (2013) in Amazonian medicinal herbs, including species of the Bignoniaceae family. Likewise, the results for Mg resemble concentrations determined by Martins et al (2009), also in Amazonian medicinal plants. All species showed concentrations of Na below the AI, indicating that consumption of these plants contributes little to the daily requirement of this metal.

The species *Cecropia obtusa* and *Bauhinia variegata* var. *alboflava* presented Zn concentrations near to the recommended daily intake, without exceeding maximum intake. On the other hand, levels of Zn in *Cecropia palmata* and *Bauhinia variegata* are higher than the DRI, but only exceeded the UL for the latter. Even though, these concentrations are in accordance with Maiga et al. (2005), who determined Zn in medicinal plants. The levels found for Mn and Fe in all plants were considerably high, exceeding the maximum daily intake. Hence, these plants may be considered as a source for these minerals, as reported by Amarante et al. (2011); Gupta & Gupta (2013). However, caution must be taken on regular consumption of these plants, since Mn and Fe may be toxic above certain concentrations. Regarding Cu, it may be noticed that both *Bauhinia* species and *Cecropia obtusa* exceeded DRI, but without exceeding the UL. On the other hand, *Cecropia palmata* has shown maximum value slightly above the UL. Despite the fact that these results go beyond the levels set out by the legislation, they are in accordance with many works in the literature, such as Ozcan (2004); Andrade, Alves and Takase (2005); Basgel & Erdemoglu (2006).

Tabela 3 – Daily Reference Intake (DRI) or Adequate Intake (AI) and Upper Limits (UL) for macronutrients, micronutrients and toxic elements. Mineral composition of *Cecropia obtusa*, *Cecropia palmata*, *Bauhinia variegata* and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava*.

| Mineral | DRI or AI*(mg) | | UL (mg) | | Ref | Determined concentrations (mg/kg) | | | | | | | |
|---------|----------------|--------|---------|-------|-----|-----------------------------------|--------|-------------------------|--------|---------------------------|--------|---|---------|
| | Women | Men | Women | Men | | <i>Cecropia obtusa</i> | | <i>Cecropia palmata</i> | | <i>Bauhinia variegata</i> | | <i>Bauhinia variegata</i> L. var. <i>alboflava</i> | |
| | | | | | | min | max | min | max | min | max | min | max |
| K* | 4700 | 4700 | ND | ND | (1) | 8521.0 | 18869 | 13392 | 18414 | 9249.4 | 11745 | 9298.0 | 11598 |
| Na* | 1500 | 1500 | 2300 | 2300 | (1) | 120.57 | 573.72 | 117.10 | 149.08 | 62.521 | 93.367 | 4.4531 | 130.652 |
| Ca* | 1000 | 1000 | 2500 | 2500 | (1) | 8696.6 | 10083 | 13688 | 18226 | 7754.2 | 10514 | 5566.2 | 11.974 |
| Mg | 400 | 310 | 350 | 350 | (2) | 2900.3 | 6023.2 | 3556.1 | 4751.1 | 2599.4 | 3687.2 | 2127.7 | 2748.7 |
| Zn | 11 | 8 | 40 | 40 | (2) | 10.356 | 25.511 | 18.848 | 30.006 | 31.645 | 37.104 | 12.239 | 15.912 |
| Fe | 8 | 18 | 45 | 45 | (2) | 64.793 | 108.01 | 83.708 | 117.97 | 58.722 | 104.53 | 67.659 | 107.54 |
| Mn* | 2.3 | 1.8 | 11 | 11 | (1) | 40.165 | 72.395 | 38.894 | 45.847 | 27.814 | 40.391 | 47.977 | 71.802 |
| Cu | 0.9 | 0.9 | 10 | 10 | (2) | 6.9600 | 8.4100 | 10.110 | 10.740 | 1.1500 | 4.9800 | 1.2600 | 2.7800 |
| Cr | 0.0035 | 0.0025 | ND | ND | (2) | 0.6050 | 1.1930 | 0.7880 | 1.1670 | 0.4190 | 0.6830 | 0.1700 | 0.3270 |
| Ni | ND | ND | 1 | 1 | (2) | 0.0760 | 0.1760 | 0.1320 | 0.4100 | 0.0810 | 0.2670 | 0.1450 | 0.7130 |
| As | ND | ND | 0.15 | 0.15 | (1) | 0.0949 | 0.1522 | 0.1337 | 0.1787 | 0.0451 | 0.1403 | 0.1444 | 0.1976 |
| Cd | 0.008 | 0.008 | 0.07 | 0.07 | (2) | < LD | < LD | < LD | < LD | < LD | < LD | < LD | < LD |
| Pb | ND | ND | 0.245 | 0.245 | (2) | 0.1110 | 0.2430 | 0.1110 | 0.2280 | 0.0810 | 0.1330 | 0.0650 | 0.1700 |
| Hg | ND | ND | 0.05 | 0.05 | (2) | 0.0285 | 0.0411 | 0.0415 | 0.0775 | 0.015 | 0.0315 | 0.0329 | 0.0482 |

Values related to dietary reference intake for youths/adults (19-50 years old); *AI: values of adequate intake, which do not correspond to dietary reference intake (DRI); ND: not established; LD: Detection limit for Cd (0,00002 mgL⁻¹); (1) Values are taken from Institute of Medicine; (2) Values are taken from WHO.

Cr contents found for all four species studied were above the daily intake values set out by legislation. It is not possible to conclude whether these values are toxic or not, since it was not found in literature the safe intake limit for this element. Nonetheless, these results are in agreement with Basgel & Erdemoglu (2006) and Saidelles et al. (2010). Ni and Pb concentrations for all species did not reach the UL. The results found for Cd were below the limit of detection, which is not above the value stated by legislation. Although this indicates a regular consumption of these plants may not cause intoxication by these metals, the mineral contribution from other foods must be considered. The As concentrations for *Bauhinia variegata* were below the limit permitted by legislation. *A contrario*, *Cecropia obtusa*, *Cecropia palmata* and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava* exhibited maximum values of this element slightly above the intake limit established in literature. Even though this data is worrying, we have to stress that this quantity is present in 1 kg of plant and this quantity will very unlikely be part of the daily diet. Besides, the values detected are below the As maximum limit stated for teas and derivatives by the Brazilian Health Surveillance Agency (ANVISA) (1 mg/Kg) (BRASIL, 1965). Regarding the Hg concentrations, only *Cecropia palmata* has exceeded the UL, but the results found are in accordance to what is reported by Caldas & Machado (2004), who determined cadmium, mercury and lead in Brazilian medicinal herbs.

Although the concentrations found in the samples are considered low, such data warrant attention, not only because they may be significant, but also, by virtue of their chronic toxicity potential. Possibly, the contamination of these species by these metals is due to anthropic action.

4 CONCLUSION

This paper provides an overview about the mineral composition of *Cecropia obtusa*, *Cecropia palmata*, *Bauhinia variegata* and *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava*, which are of medicinal interest and are extensively used by the population.

All four species presented great potential to supply needs of Ca, K, Mg, Zn, Cu, Mn and Fe, once they showed concentrations of these minerals above the daily recommended intake values. All plants presented low levels of Na, which indicates there is no risk of excessive ingestion of this element by consuming such plants.

Plants in question exhibit small oscillations on Cr, Ni, Cd, Hg, As and Pb concentrations, which imply that the consumption of these species solely is not capable of causing intoxication by these elements. Nevertheless, one must consider the mineral contribution of other foods, as well as the cumulative effect of these metals in the organism.

Although plants have presented constant behavior for most minerals over the period monitored, its dependence with the year of collection was clearly verified for Na, Cu, Ni, As and Pb.

Since the chemical elements present in plants may vary accordingly to the environment where they are grown, further studies about the mineral composition of these species in different locations are necessary.

Acknowledgments

To the National Council of Scientific and Technological Development – CNPq (Project 405806/2013-2) for the fellowships granted to Carolina Bolssoni Dolwitsch, Alessandro Nunes Colim, Fernanda Brum Pires and Viviane Maria Schneider and FAPERGS-PPSUS.

5 REFERENCES

- AHMED, S. J. et al. Study of comparison of antimicrobial potencies of Bauhinia Variegata leave extracts with antibiotics against selected bacteria. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 4, n. 3, p. 44-46, 2012.
- AMARANTE C. B. et al. Composição química e valor nutricional para grandes herbívoros das folhas e frutos de aninga (*Montrichardia linifera*, Araceae). *Acta Amazonica*, v. 40, n. 4, p. 729-736, 2010.
- ANDRADE E. C. B.; ALVES S. P.; TAKASE I. Avaliação do uso de ervas medicinais como suplemento nutricional de ferro, cobre e zinco. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, p. 591-596, 2005.
- BASGEL, S.; ERDEMOGLU, S. B. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. **Science of the Total Environment**, v.359, p. 82-89, 2006.
- BASTOS, A. R. R. et al. Marcha de absorção de nutrientes em urucum (*Bixa orellana* L.) "tipo cultivado" piave vermelha em fase de viveiro. **Cerne**, v. 5, 76-85, 1999.
- BRASIL. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (1998). Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos. Portaria no. 685, 27 de agosto de 1998. URL <http://portal.anvisa.gov.br/>. Accessed 28.03.2015.
- CALDAS, E. D.; MACHADO, L. L. Cadmiun, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. **Food. Chem. Toxicol.**,v.42, p. 599-603, 2004.
- CAMPELO, P. M.S. Plantas medicinais e seus extratos: a necessidade de estudos continuados. **Estudos de Biologia, ambiente e diversidade**, v.28, n. 62, 2006.
- CARVALHO, S. et al. Chemical variation in *Jacobaea vulgaris* is influenced by the interaction of season and vegetation successional stage. **Phytochemistry**, v. 99, p. 86-94, 2014.
- DINIZ, V. W. B. et al. Classificação multivariada de ervas medicinais da região amazônica e suas infusões de acordo com sua composição mineral. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 257-261, 2013.

FAQUIM, V. Nutrição Mineral de Plantas. 2005. 100f. Textos acadêmicos - Curso de Pós Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a distância Fertilidade do solo e Nutrição de Plantas do Agronegócio - UFLA/FAEPE, Lavras - MG, 2005.

GUPTA, J.; GUPTA, A. Studies of trace metals in the leaves of *Phyllanthus emblica*(L) *Oriental Journal of Chemistry*, v. 29, n. 4 p. 1547-1551, 2013.

HERNANDES, A.; ROZANE, D. E.; SOUZA, H. A.; ROMUALDO, L. M.; NATALE, W. Amostragem para diagnose do estado nutricional e avaliação da fertilidade do solo em caramboleiras. **Bragantia**, v. 70, n. 3, p. 657- 663, 2011.

INOCENCIO, M. F., CARVALHO, J. G., FURTINI NETO, A. E. Potássio, sódio e crescimento inicial de espécies florestais sob substituição de potássio por sódio. **Revista Árvore**, v. 38, n. 1, p. 113-123, 2014.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes. Washington (DC): National Academy Press; 2005. URL: www.iom.edu. Accessed 10.03.15.

KOSTYUK, V. A. et al. Metal complexes of dietary flavonoids: evaluation of radical scavenger properties and protective activity against oxidative stress in vivo. **Molecular Biology of the Cell**, v. 53; n. 1, p. 62- 69, 2007.

KOTESWARA, R. Y.; SHIH-HUA, F.; YEW-MIN, T. Anti- inflammatory activity of flavanoids and a triterpene caffate isolated from *Bauhinia variegata*. **Phytotherapy Research**, v. 22, p. 957-962, 2008.

LIMA, C. N. F. et al. Ação protetora de *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff. contra a toxicidade do cloreto de mercúrio em *Escherichia coli*. **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**, v. 19, n. 3, p. 179-188, 2014.

MAIGA, A. Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 2316-2321, 2005.

MARTINS, A. S. Avaliação de minerais em plantas medicinais amazônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 621-625, 2009.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 4050-4063, 2009.

MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 15, n. 2, p. 119-29, 2004.

OZCAN, M. Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. **Food Chemistry**, v. 84, p. 437–440, 2004.

PEREIRA, R. M. et al. Synthesis and characterization of a metal complex containing naringin and Cu, and its antioxidant, antimicrobial, antiinflammatory and tumor cell cytotoxicity. **Molecules**, v.12, n.7, p.1352-66, Jul., 2007.

PESSANHA, P.G.O. et al. Teores foliares de nutrientes em doze genótipos de videira. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 881-888, 2010.

PINTO, L. S. et al. Caracterização química e bioquímica de sementes de Bauhinia variegata L. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 385-390, 2005.

RAJANI, P. G.; ASHOK, P. In vitro antioxidant and antihyperlipidemic activities of Bauhinia variegata Linn. **Indian Journal Pharmacology**, v.41, n.5, v. 227-232, 2009.

RAMOS, T. J. N. et al. CONTEÚDO DE Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em chás de Cecropia palmata Willd. Seminário de iniciação científica da embrapa amazônia oriental, 17.; seminário de pós-graduação da embrapa amazônia oriental, 1., 2013, Belém, PA. Anais. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2013. 1 CD-ROM. PIBIC 2013. 17.

SAIDELLES, A. P. F. et al. Análise de metais em amostras comerciais de erva-mate do Sul do Brasil. **Alimento e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 2, p. 259-265, 2010.

SILVA, E. M. et al. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1012–1018, 2007.

SILVA, A. C.; SANTOS, A. R.; PAIVA, A. V. de. Translocação de nutrientes em folhas de Hevea brasiliensis (Clone) e em acículas de Pinus oocarpa. **Revista da Universidade de Alfenas**, Alfenas, v. 4, p. 11-18, 1998.

SONAM, P.; AGRAWAL, R. C. Effects of Bauhinia variegata bark extract on DMBA induced mouse skin carcinogenesis: A preliminary study. **Global Journal of Pharmacology**, v. 3, n. 3, p. 158-162, 2009.

SUBBARAO, G. V. et al. How far can sodium substitute for potassium in red beet? **Journal of Plant Nutrition**, v. 22, n. 11, p. 1745-1761, 1999.

VEIGA JUNIOR, V. F., PINTO, A. C., MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VELOSO, C. A. C. et al. Influência do manganês sobre a nutrição mineral e crescimento da pimenteira do reino (*Piper nigrum*, L.). **Scientia Agricola**, v. 52, n. 2, p. 376-383, 1995.

WHO, World Health Organization (2011). Evaluation of certain contaminants in food: seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. n°. 959/2011. URL: http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_959_eng.pdf. Accessed: 10.04.2015.

6 DISCUSSÃO INTEGRADA

Este trabalho forneceu um panorama da composição química mineral de *Mansoa alliacea*, *Connarus perrottetti* var. *angustifolius*, *Cecropia obtusa*, *Cecropia palmata*, *Bauhinia variegata* e *Bauhinia variegata* var. *alboflava*.

Para a realização do trabalho fez-se o uso de quatro técnicas analíticas, as quais apresentaram sensibilidade adequada para determinação da concentração da maioria dos elementos presentes.

Pode-se verificar uma variação no teor dos elementos para os três anos de amostragem, porém sem apresentar um comportamento uniforme. Em geral as maiores variações observadas foram na concentração dos minerais quando comparados entre si, já que uns são requeridos em maiores e outros em menores concentrações.

Todas as espécies apresentaram concentrações satisfatórias de minerais essenciais à saúde, tornando-as potencialmente aplicáveis para complementação alimentar. Além disso, essas espécies apresentaram pequenas concentrações de Na, indicando que tais plantas podem ser consumidas mesmo por pessoas com restrição a este elemento.

Em relação aos minerais não essenciais, as espécies analisadas não são capazes de causar intoxicação à curto prazo. Porém deve-se considerar a contribuição de outros alimentos consumidos diariamente. Embora alguns elementos tenham excedido os limites máximos estabelecidos na literatura, os resultados estão em concordância com outros estudos.

Dentre as plantas analisadas as espécies do gênero *Cecropia* foram as que apresentaram maiores concentrações pra maioria dos elementos, sendo que *Cecropia obtusa* apresentou maior valor para K, Na, Mg, Mn e Cr. Já para *Cecropia palmata* os maiores valores foram encontrados para Ca, Fe, Cu e Hg. Os maiores valores verificados para Zn e Cd foram na *Mansoa alliacea*. *Connarus perrottetti* var. *angustifolius* apresentou maiores concentrações de de Ni, As, Pb. As espécies do gênero *Bauhinia* não apresentaram concentrações máximas para nenhum elemento.

Tendo em vista que os elementos químicos presentes nas plantas podem variar de acordo com o ambiente onde elas são cultivadas, mais estudos sobre a composição mineral destas espécies em diferentes regiões são necessários.

7 CONCLUSÃO

- A análise da constituição mineral da *Mansoa alliacea* e *Connarus perrottetti* var. *angustifolius* revelou que as espécies têm potencial de suplementar as necessidades de Ca, K, Mg, Zn, Cu, Mn e Fe, uma vez que apresentaram concentrações destes minerais essenciais acima dos valores diários de ingestão recomendados. Em relação ao Na, as espécies apresentaram baixos teores desse elemento, indicando que não há risco de ingestão excessiva do elemento pelo consumo de tais plantas. Também, as plantas estudadas exibiram pequenas concentrações dos metais Cr, Ni, Cd, Hg, As e Pb, indicando que o consumo de tais espécies, isoladamente, não é capaz de causar intoxicação por estes elementos a curto prazo. Em relação aos diferentes anos de amostragem foi verificada variações no teor dos elementos, porém as oscilações não apresentaram um comportamento uniforme.

- A análise da constituição mineral de *Cecropia obtusa*, *Cecropia palmata*, *Bauhinia variegata* L. e *Bauhinia variegata* L. var. *alboflava angustifolius* revelou que as espécies podem auxiliar na suplementação de Ca, K, Mg, Zn, Cu, Mn e Fe, uma vez que apresentaram concentrações destes minerais essenciais acima dos valores diários de ingestão recomendados. Além disso, as espécies apresentaram baixos teores de Na, indicando que não há risco de ingestão excessiva desse elemento pelo consumo de tais plantas. Também, as plantas estudadas exibiram pequenas concentrações dos metais Cr, Ni, Cd, Hg, As e Pb, indicando que o consumo de tais espécies vegetais, isoladamente, não é capaz de causar intoxicação por estes elementos a curto prazo. Em relação aos diferentes anos de amostragem foi verificada variações no teor dos elementos, porém as alterações foram heterogêneas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. M. B. et al. Avaliação de macro e micronutrientes em frutas tropicais cultivadas no nordeste brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.3, p. 581-586, 2009.

ALMEIDA, M. M. B. et al. Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 94-97, 2002.

AMORIM, F. A. C. et al. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares – Bahia, BA. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1784-1790, 2008.

ANDRADE E. C. B.; ALVES S. P.; TAKASE I. Avaliação do uso de ervas medicinais como suplemento nutricional de ferro, cobre e zinco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 591-596, 2005.

ASGHARI, G.; PALIZBAN, A.; BAKHSHAEI, B. Quantitative analysis of the nutritional components in leaves and seeds of the Persian Moringa peregrina. **Pharmacognosy Research**, v. 7, p. 242-248, 2015.

BANSAL, V. et al. Phytochemical, pharmacological profile and commercial utility of tropically distributed plant Bauhiniavariegata. **Global Journal of Pharmacology**, v. 8, n. 2, p. 196-205, 2014.

BASGEL, S.; ERDEMOGLU, S. B. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. **Science of the Total Environment**, v. 359, p. 82– 89, 2005.

BIANCO, E. M.; SANTOS, C. A. M. Substâncias isoladas das folhas de *Bauhinia microstachya* (Raddi) Macbr (Caesalpiniaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 2, p. 93, 2003.

CALDAS, E. D.; MACHADO, L. L. Cadmiun, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. **Food and Chemical Toxicology**, v.42, p. 599-603, 2004.

COELHO-FERREIRA, M. Medicinal knowledge and plant utilization in na Amazonian coastal community of Maruda, Pará State (Brazil). **Journal of Ethopharmacology**, v. 126, p. 159-175, 2009.

COX, C.; CLARKSON, T. W.; MARSH, D. U. Dose-response analysis of infants prenatally exposed to methylmercury. **Environmental Research**, v. 49, p. 318-332, 1989.

DELAPORTE, R. H. et al. Estudo mineral das espécies vegetais *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze e *Bouchea fluminensis* (Vell) Mold. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 133-136, 2005.

DIM, L. A. et al. Determination of some elements in *Ageratum conyzoides*, a tropical medicinal plant, using instrumental neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 261, p. 225-228, 2004.

dos SANTOS, P. et al. Perfil de flavonoides e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico de *Bauhinia purpurea* (Fabaceae) da região amazônica. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 89-94, 2014.

FRAGA, C.G.; OTEIZA, P.I. Iron toxicity and antioxidant nutrients. **Toxicology**, v. 180, p. 23-32, 2002.

FRANCO, M. J. et al. Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama-PR. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 15, n. 2, p. 121-127, 2011.

FRESCHI, G. P. G. et al. Espectrometria de absorção atômica multielementar simultânea com atomização eletrotérmica em forno de grafite – uma revisão da técnica e aplicações. **Eclética Química** [online], v. 25, p. 213-226, 2000.

GOYER, R. A. **Toxic Effects of Metals**. **Toxicology**, The Basic Science of Poisons, Casarett and Doull's, McGraw-Hill, 5^a Ed., pp. 691-734, 1995.

IARC. Beryllium, Cadmium, Mercury and Exposure in the Glass Manufacturing Industry. **International Agency for Research on Cancer**, Lyon, 1993.

KWOK, R. K.; KAUFMANN, R. B.; JAKARIYA, M. Arsenic in drinking-water and reproductive health outcomes: a study of participants in the Bangladesh Integrated Nutrition Programme. **Journal Health, Population and Nutrition**, v. 24, p. 190-205, 2006.

LE, P. M. et al. NMR study of quinolizidine alkaloids: relative configurations, conformations. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 43, p. 283-293, 2005.

LEAL, A. S. et al. Determination of metals in medicinal plants highly consumed in Brazil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 3, p. 599-607, 2013.

LIU, R. H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, p. 517-520. 2003.

LOPES M. F. G. Estudo mineral de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 115-116, 2002.

LUENGAS-CAICEDO, P. E. **Contribuição para a padronização de extratos de folhas de cecropia glaziovii snethl.: estudos de variação sazonal e intra-específica de flavonóides e proantocianidinas, de metodologias de extração e de atividade vasorelaxante.** Tese de Doutorado PPGCF-UFGM, 2005.

MAHMOOD, A. et al. Indigenous knowledge of medicinal plants from Gujranwala district, Pakistan. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, p.714–723, 2013.

MARTHE, D. de B. **Determinação de Al, Cu, Fe, Pb e Zn em amostras de alcachofra e catuaba por espectrometria de absorção atômica.** 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

MARTINS, A. S. Avaliação de minerais em plantas medicinais amazônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 621-625, 2009.

MASSARO, E. J. Metal Metabolism and Toxicities. **Handbook of Human Toxicology**, CRC, 1997.

MILTON, A. H. et al. Chronic arsenic exposure and adverse pregnancy outcomes in Bangladesh. **Epidemiology**, v. 16, p. 82-86, 2005.

MISHRA, A. et al. Bauhinia variegata leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant, and anticancer activities. **BioMed Research International**, art. no. 915436, 2013.

MULLER, A. L. H. et al. Microwave-assisted digestion using diluted acids for toxic element determination in medicinal plants by ICP-MS in compliance with United States pharmacopeia requirements. **Analytical Methods**, v. 7, p. 5218-5225, 2015.

NAVA, I. A. et al. Disponibilidade dos metais pesados tóxicos cádmio, chumbo e cromo no solo e tecido foliar da soja adubada com diferentes fontes de NPK+Zn. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 5, p. 884-892, 2011.

NICOSAI-TORRES, M. P. et al., Production of chlorogenic acid and isoorientin hypoglycemic compounds in *Cecropia obtusifolia* calli and in cell suspension cultures with nitrate deficiency. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, p. 307-316, 2012.

NOLAN, C. V.; SHAIKH, Z. A. Lead nephrotoxicity and associated disorders: biochemical mechanisms. **Toxicology**, v. 73, p. 127-146, 1992.

NORDBERG, G. Excursions of Intake above ADI: case Study on Cadmium. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 3, p. 57-62, 1999.

PINTO. L. S. et al. Caracterização química e bioquímica de sementes de *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 385-390, 2005.

PIZZOLATTI, M. G. et al. Flavonóides glicosilados das folhas e flores de *Bauhinia forticata* (Leguminosae). **Química Nova**, v. 26, n. 4, p.466, 2003.

RAMOS, T. J. N. et al. CONTEÚDO DE Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn EM CHÁS DE *Cecropia palmata* Willd. **17º Seminário de Iniciação Científica e 1º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental**. Belém-PA, 2013.

ROCHA, G. G. , et al., Natural triterpenoids from *Cecropia lyratiloba* are cytotoxic to both sensitive and multidrug resistant leukemia cell lines. **Bioinorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 7355-7360, 2007.

SANTOS Jr. U. M. et al. Growth, leaf nutrient concentration and photosynthetic nutrient use efficiency in tropical tree species planted in degraded areas in central Amazonia. **Forest Ecology and Management**, v. 226, p. 299–309, 2006.

SARAVANAMUTTU, S.; SUDARSANAM, D. Antidiabetic plants and their active ingredients: a review. **IJPSR**, v.3, n. 10, p. 3639-3650, 2012.

SHINDE, P. et al., Herbs in pregnancy and lactation: a review appraisal. **IJPSR**, v. 3, n. 9, p. 3001-3006, 2012.

SILVA, A. L. O. et al. Dietary intake and health effects of selected toxic elements. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 79-93, 2005.

SILVA, C. S. da. et al. Avaliação do uso da casca do fruto e das folhas de *Caesalpinia ferrea* Martius como suplemento nutricional de Fe, Mn e Zn. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 751-754, 2010.

SILVA, K. L.; CECHINEL, V. F.; Plantas do gênero Bauhinia: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 449-454, 2002.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo: Cengage Learning, 2008. 999 págs.

SOBRAL et al. Escória de siderurgia e seus efeitos nos teores de nutrientes e metais pesados em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v.15, n.8, p.867-872, 2011.

SOUZA FILHO, A. P. da S.; NASCIMENTO, J. L. M. do. Cipó-de-alho: aspectos botânicos, químicos e moléculas bioativas. Brasília, DF: **Embrapa**, 2012. 165 p.

SPOSITO, T. C., SANTOS, F. A. M. Scaling of stem and crown in eight Cecropia (cecropiaceae) species of Brazil. **American Journal of Botany**, v.88, n.5, p.939-949, 2001.

TAKASE, I. et al. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova** [online], v.25, n.6, p. 1132-1144, 2002.

TEMPLE, N. J. Antioxidants and disease: more questions than answers. **Nutrition Research**, v. 20, p. 449-459. 2000.

TIWARI, S. et al. Phytochemical screening and diuretic activity of allium sativum steroidal and triterpenoid saponin fraction. **IJPSR**, v. 3, n.9, p. 3354-3361, 2012.

VEIGA JUNIOR, V. F., PINTO, A. C., MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VIJAYAKUMARI, K. et al. Chemical Composition, Amino Acid Content and Protein Quality of the Little-Known Legume *Bauhinia purpurea* L. **J. Sci Food Agric**, v. 73, p. 279-286, 1997.

WELZ, B. et al. High-Resolution Continuum-source Atomic Absorption Spectrometry - What Can We Expect? **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 220-229.

WELZ, B.; SPERLING, M.; **Atomic Absorption Spectrometry**, 3rd ed., Wiley-VCH: Weinheim, 1999.

WHO Cadmium. **World Health organization**, Geneva, 1992.

ZOGHBI, M. G. B. et al. The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.19, p. 795-804, 2009.

ZOGHBI, M. G. B.; OLIVEIRA, J.; GUILHON, G.M. P. The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.19, n. 3, p. 795-804, 2009.