

## MINIATURIZAÇÃO DO MÉTODO DE DIGESTÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FE, CU, ZN, CA E MG EM PLANTAS MEDICINAIS POR ABSORÇÃO ATÔMICA

**Autores:** MARTA BATISTA RAMALHO, ÉRICA SOARES BARBOSA, JOÃO PAULO FERNANDES TIAGO, VINÍCIUS SOARES TEIXEIRA, ANE PATRÍCIA CACIQUE, FLAVIANO OLIVEIRA SILVÉRIO, GEVANY PAULINO DE PINHO

### Introdução

A *Catharanthus roseus* (vinca) é uma espécie medicinal lendária e conhecida por dois importantes alcaloides antitumorais, a vincristina e a vimblastina. Além disso, também é visada economicamente pelo valor estético ornamental, em virtude das belas cores que as flores apresentam (YAMAMOTO et al., 2016). Já dentro o gênero *Vernonia*, encontra-se uma espécie popularmente conhecida como boldo, que se destaca pelo uso em alimentos, remédios e aplicações industriais (THOMAS et al., 2016).

O conteúdo elementar vegetal é importante para a indústria de fitomedicamentos, devido às propriedades toxicológicas e nutricionais (JÚNIOR, SANTOS et al., 2017). Para determinar a composição de macro e micronutrientes nestas matrizes, comumente são empregados métodos de digestão e análise por espectrometria e espectrofotometria, como o absorção atômica.

Neste contexto, para a avaliação da composição química de espécies vegetais, como as medicinais, a etapa de preparo de amostras é crucial para se obter resultados confiáveis. O custo-benefício deve ser considerado, uma vez que; metodologias miniaturizadas possibilitam maior economia de amostras e solventes, além de tornar os métodos mais simples e econômicos. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar três diferentes massas de folhas de vinca e boldo, para propor a miniaturização do método de digestão e quantificar macro (Ca e Mg) e micronutrientes (Zn, Cu e Fe) por absorção atômica.

### Material e métodos

#### A. Coleta e armazenamento das amostras

As folhas de vinca e boldo (*Vernonia condensata*) foram obtidas no jardim do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG, Campus Montes Claros. Após a coleta, as folhas foram lavadas com água destilada e destinadas a secagem em estufa a 60 °C por 16 h. Em seguida, foram trituradas com auxílio de pistilo e almofariz e armazenadas em temperatura ambiente.

#### B. Parâmetros otimizados e digestão das amostras

Para o ensaio de miniaturização do método de digestão das amostras, foram utilizadas as massas 50, 100 e 1000 mg das folhas secas das duas espécies e os testes foram realizados em duplicata.

O método de digestão utilizado foi baseado na metodologia proposta por Júnior, Santos e colaboradores (2017). Para isso, foram adicionados 10 mL de HNO<sub>3</sub> (65%, v/v) e 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (35%, v/v) aos testes de 1000 mg de amostras, e 2,5 mL de HNO<sub>3</sub> (65%, v/v) e 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (35%, v/v) aos de 50 e 100 mg de amostras. Os sistemas foram tampados com funil de vidro e aquecidos em chapa de aquecimento convencional a 150 °C até o desprendimento de gases e digestão das amostras. Os extratos obtidos foram filtrados em papel qualitativo. Os ensaios de 1000 mg foram recuperados em balão volumétrico de 25 mL e os de 50 e 100 mg em balão volumétrico de 5 mL com água ultrapura (Milli-Q).

#### C. Quantificação dos elementos

Para a elaboração das curvas analíticas foram utilizadas soluções padrão para espectroscopia de absorção atômica da *Sigma Aldrich* (Alemanha) diluídas em água ultrapura. Na quantificação dos elementos Ca e Mg foi necessário adicionar à curva analítica e às amostras solução de La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, como supressor de interferentes, obtido da *Sigma Aldrich* (Alemanha). As análises foram realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica da Varian (AA 240 FS). O método de atomização utilizado para os elementos Zn, Cu, Fe foi o modo chama, composto por ar-acetileno (acetileno 2.8 AA). Para a quantificação do Mg e Ca foi necessária a composição acetileno-óxido nítrico (óxido nítrico 2.2).

#### D. Análise estatística

Os dados obtidos nos ensaios foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F a 5% de significância, e as médias significativas foram comparadas pelo teste de Tukey utilizando o programa estatístico BioEstat 5.3.

### Resultados e discussão



### A. Miniaturização do método de digestão

Na etapa de digestão das amostras foi possível reduzir em 4x o volume de ácido e cerca de metade do tempo para as amostras de 50 e 100 mg quando comparadas com as de 1000 mg. No entanto, é importante salientar que, se o analista pretende avaliar uma maior quantidade de elementos por absorção atômica, maiores massas de amostras permitem um maior volume de recuperação. Na Tabela 1 são apresentados os coeficientes de determinação obtidos nas curvas de calibração de cada elemento, sendo todos superiores a 0,99. É possível verificar também que as concentrações (em mg L<sup>-1</sup>) das amostras avaliadas em 100 mg de folhas foram cerca de duas vezes maiores daquelas avaliadas em 50 mg, logo, as concentrações avaliadas em 1000 mg foram superiores. Isso evidencia que a miniaturização do método de digestão foi sensível na quantificação dos cinco elementos.

### B. Quantificação dos macro e micronutrientes

As amostras de folhas de boldo apresentaram maiores concentrações de Zn, Cu, Ca e Mg do que as de vinca, e o Fe por sua vez não apresentou diferença significativa entre as plantas medicinais. Na Figura 1-A pode-se observar que as concentrações (em mg kg<sup>-1</sup>) dos elementos Zn, Cu, Ca e Mg não apresentaram diferenças significativas entre as três massas avaliadas. O Fe apresentou perfil semelhante nas amostras de vinca e boldo (Figura 1-B). A menor concentração desse elemento obtida na massa de 1000 mg deve-se, possivelmente, à menor interação com volume de ácido utilizado. Alguns trabalhos recentes adotaram massas de 0,2 a 1 g de amostra na presença de 10 mL de HNO<sub>3</sub> para digestão de plantas medicinais e obtiveram resultados satisfatórios (OZYIGIT et al., 2017; RASHID et al., 2016).

Avaliando-se a concentração dos macronutrientes do boldo (Figura 1-B), observa-se uma diferença expressiva somente no resultado da quantificação de Mg, sendo a menor concentração do metal equivalente a massa de 50 mg de folha. Isso deve estar relacionado à necessidade de massas superiores à 100 mg para quantificação deste elemento.

### Conclusões

A miniaturização do método de digestão apresentou-se eficiente para a quantificação de Zn, Cu, Ca e Mg em amostras de vinca. No boldo, os elementos Zn, Cu e Ca foram quantificados sem diferença significativa entre as três massas de folhas avaliadas. Para a determinação dos elementos em plantas medicinais, o processo de preparo de amostras miniaturizado foi simples, rápido e reduziu a quantidade de reagentes, e estes fatores possibilitam maior frequência analítica com a obtenção de resultados confiáveis.

### Agradecimentos

Ao Laboratório de Pesquisa em Agroquímica pelo espaço, ao Instituto de Ciências Agrárias da UFMG – Campus Montes Claros e ao FINEP pelos equipamentos concedidos.

### Referências bibliográficas

- JÚNIOR, Santos et al. Multielement Determination of Macro and Micro Contents in Medicinal Plants and Phytomedicines from Brazil by ICP OES. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 28, n. 2, p. 376-384, 2017.
- OZYIGIT, I. I. et al. Investigation of Heavy Metal Level and Mineral Nutrient Status in Widely Used Medicinal Plants' Leaves in Turkey: Insights into Health Implications. *Biological Trace Element Research*, p. 1-20, 2017.
- RASHID, M. H. et al. Determination of heavy metals in the soils of tea plantations and in fresh and processed tea leaves: an evaluation of six digestion methods. *Chemistry Central Journal*, v. 10, n. 1, p. 7, 2016.
- THOMAS, E. et al. Extract of vernonia condensata, inhibits tumor progression and improves survival of tumor-allograft bearing mouse. *Scientific reports*, v. 6, p. 23255, 2016.
- YAMAMOTO, K., et al. Cell-specific localization of alkaloids in Catharanthus roseus stem tissue measured with Imaging MS and Single-cell MS. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 113, n. 14, p. 3891-3896, 2016.

**Tabela 1.** Concentração (mg L<sup>-1</sup>) e coeficiente de determinação (r<sup>2</sup>) dos elementos Zn, Cu, Fe, Ca e Mg em diferentes massas de folhas de vinca e boldo por absorção atômica

Elementos	r <sup>2</sup>	Concentração (mg L <sup>-1</sup> ) vinca			Concentração (mg L <sup>-1</sup> ) boldo		
		50 mg	100 mg	1000 mg	50 mg	100 mg	1000 mg
		Zn	0,9994	0,099±0,03	0,212±0,003	0,395±0,003	0,176±0,03
Cu	1,0000	0,053±0,006	0,117±0,01	0,268±0,002	0,132±0,005	0,290±0,03	0,605±0,06
Fe	0,9999	1,07±0,09	2,22±0,21	3,44±0,21	1,05±0,004	1,95±0,04	2,40±0,24
Ca	0,9996	28,9±2,96	52,8±3,67	116±14,0	41,4±0,56	73±17,8	142±12,4
Mg	0,9987	22,7±2,2	40,8±11,1	55,0±11,7	23,4±0,42	127±20,5	244±36,7
Volume final		5 mL	5 mL	25 mL	5 mL	5 mL	25 mL

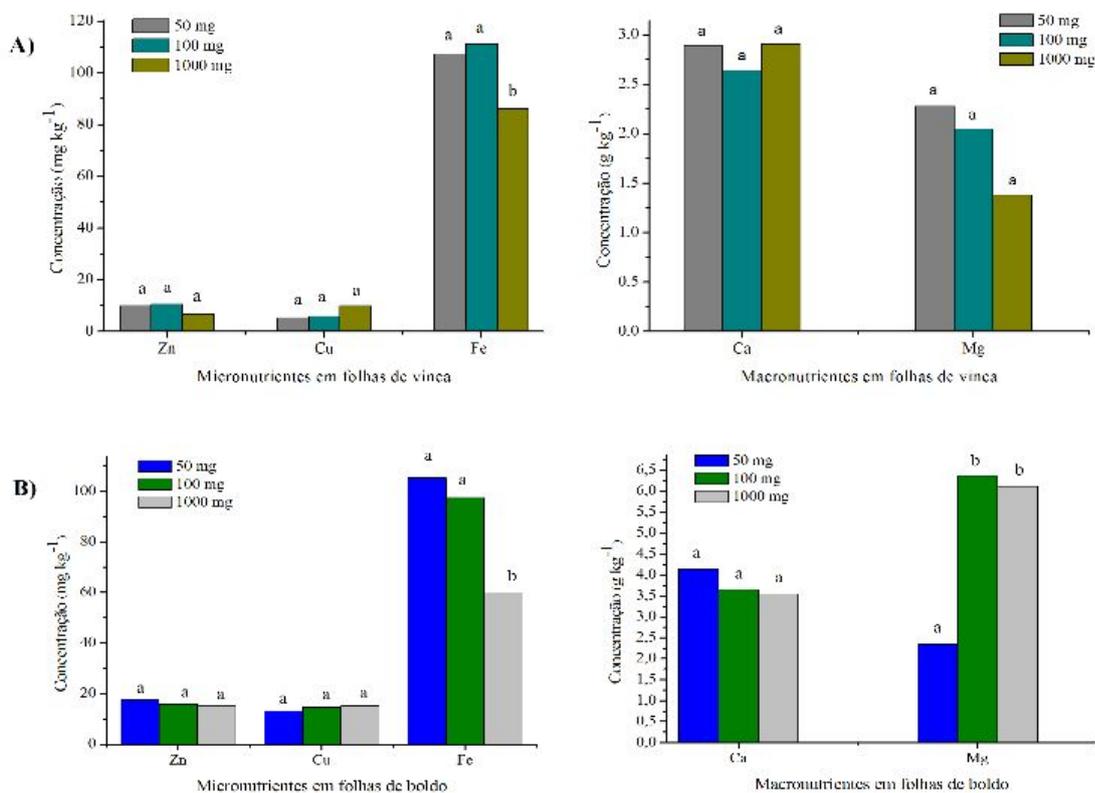


Figura 1. Concentração de micro (mg kg<sup>-1</sup>) e macronutrientes (g kg<sup>-1</sup>) em amostras de folha de (A) vinca e (B) boldo quantificadas em diferentes massas