

CLASSIFICAÇÃO MULTIVARIADA DE ERVAS MEDICINAIS DA REGIÃO AMAZÔNICA E SUAS INFUSÕES DE ACORDO COM SUA COMPOSIÇÃO MINERAL

Victor W. B. Diniz, Heronides A. Dantas Filho, Regina C. S. Müller e Kelly G. Fernandes*

Faculdade de Química, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, 66075-110 Belém – PA, Brasil

Dulcidéia C. Palheta

Instituto de Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Pres. Tancredo Neves, 2501, 66077-901 Belém – PA, Brasil

Recebido em 19/5/12; aceito em 17/8/12; publicado na web em 23/1/13

MULTIVARIATE CLASSIFICATION OF MEDICINAL HERBS FROM THE AMAZON REGION AND THEIR INFUSIONS ACCORDING TO THEIR MINERAL COMPOSITION. In this study, the mineral composition of leaves and teas of medicinal plants was evaluated. Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn were determined in the samples using flame atomic absorption spectrometry. Principal component analysis was applied to discriminate the samples studied. The samples were divided within the 2 groups according to their mineral composition. Copper and iron were the variables that contributed most to the separation of the samples followed by Ca, Mg, Mn and Zn. The information in the principal component analysis was confirmed by the dendrogram obtained by hierarchical cluster analysis.

Keywords: medicinal plants; multivariate analysis; FAAS.

INTRODUÇÃO

A utilização de ervas medicinais é uma prática muito comum e bastante difundida em várias partes do mundo. As ervas são coletadas nas florestas ou quintais residenciais e podem ser comercializadas em feiras livres, supermercados, farmácias de manipulação ou em lojas especializadas. O tratamento com ervas medicinais apresenta-se como uma alternativa ao tratamento da medicina convencional e pode utilizar várias partes das plantas como raiz, caule, folha, flores, frutos ou sementes dependendo da espécie vegetal. A forma de preparação também pode ser variada, porém, a mais utilizada é a infusão (chá), que se apresenta como uma das bebidas mais consumidas no mundo, seja pelo sabor agradável, seja por seu potencial terapêutico que auxilia a cura de doenças.¹⁻³ Não há um rigor, por parte dos consumidores, na preparação e na utilização das infusões (chás) de plantas medicinais, uma vez que sua preparação e sua indicação na maioria das vezes é herança de antigas culturas. Além disso, a maioria das ervas medicinais encontradas na região amazônica não possui as suas propriedades bem estudadas.

A Amazônia possui uma flora bastante variada. A utilização de ervas medicinais é bastante antiga na região amazônica, herança de tribos indígenas que habitavam na região e repassaram as suas tradições, contribuindo assim para o uso das ervas pela população no tratamento de doenças.

Nos últimos anos tem surgido uma grande preocupação em se conhecer a composição das ervas medicinais, visto que muitas delas são indicadas para as mais diversas enfermidades que acometem o homem. Muitas pessoas ainda utilizam ervas ou preparados medicinais como primeiro recurso terapêutico no tratamento de enfermidades.^{4,5} Um grande interesse vem sendo dado ao estudo de constituintes inorgânicos presentes em alimentos, bebidas e fitoterápicos, porque estes elementos podem auxiliar no metabolismo ou, dependendo da sua concentração, podem ser prejudiciais à saúde do homem.^{6,7}

O estudo da composição mineral nas plantas medicinais tem se mostrado bastante relevante, uma vez que as plantas podem ser

uma fonte alternativa de minerais necessários para manter a saúde do corpo.⁸ Os constituintes inorgânicos estão envolvidos em muitas funções importantes do corpo humano, tais como a mineralização óssea, reações enzimáticas, secreção de hormônios, proteção de células e lipídios.^{9,10} Os elementos químicos podem ser encontrados incorporados à estrutura de proteínas (metaloproteínas), enzimas (metaloenzimas) e a complexos de carboidratos que participam de reações bioquímicas no organismo em diferentes matrizes.¹¹

Os constituintes inorgânicos podem exercer algumas funções metabólicas no corpo humano. O cálcio, por exemplo, está presente nos ossos e dentes, auxilia na coagulação sanguínea, na contração e no relaxamento muscular e é ativador de várias enzimas. O cobre é necessário para o transporte do ferro, está envolvido na síntese do tecido conjuntivo e na proteção antioxidante. O ferro é essencial na formação da hemoglobina e está presente em várias enzimas. O magnésio atua como coenzima em todas as enzimas envolvidas na transferência de fosfato e é importante para a transmissão de impulsos nervosos. O manganês é importante em vários sistemas enzimáticos, faz parte da enzima arginase formadora da ureia e catalisa a síntese de cartilagens. O zinco tem efeito na síntese de proteínas, essencial para a mobilização hepática da vitamina A, atua na maturação sexual, fertilidade e reprodução e apresenta um importante papel no desenvolvimento e na regulação do apetite.^{12,13}

Nos últimos anos, a análise multivariada tem sido introduzida para o tratamento de dados em diversas matrizes. A análise de componentes principais (PCA) e a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) são métodos de análises exploratória que visam evidenciar similaridades ou diferenças entre amostras de um determinado conjunto de dados.^{4,14,15}

Vários trabalhos têm sido encontrados na literatura sobre a determinação dos teores de constituintes inorgânicos em ervas medicinais no Brasil e no exterior,^{4,6,16-19} mas são escassos os relatos referentes à composição mineral das plantas medicinais da região amazônica estudadas neste trabalho. Sendo assim, neste estudo foi avaliada a composição mineral (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn) de 10 espécies de ervas medicinais da região amazônica e suas infusões (chás). A análise multivariada foi utilizada para melhor interpretar os dados.

*e-mail: kdgfernandes@ufpa.br

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentação

Um espectrômetro de absorção atômica com chama (SpectrAA 220, Varian, Mulgrave, Victoria, Austrália) foi usado para determinação de cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês e zinco nas folhas secas e nos chás das ervas medicinais. Como fonte de radiação foram usadas lâmpadas de cátodo oco para Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn operando a 10, 4, 14, 4, 15 e 10 mA, respectivamente. As resoluções espectrais utilizadas foram 0,5 (Ca, Cu e Mg), 0,2 (Fe e Mn) e 1,0 nm (Zn). Os comprimentos de onda usados para Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn foram 422,7; 324,8; 248,3; 285,2; 279,5 e 213,9 nm, respectivamente. A mistura ar/acetileno foi utilizada como gás oxidante e combustível, respectivamente.

Para a digestão das amostras foi utilizado um bloco digestor Tecnal (Modelo TE-040/25-1, Piracicaba, São Paulo, Brasil).

Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. As soluções foram preparadas com água purificada (resistividade 18,2 MΩ cm) em sistema Elga (Elgastat, Buckinghamshire, England).

As soluções de referência de 1000 mg L⁻¹ Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn (SpecSol, São Paulo, Brasil) foram utilizadas na preparação dos padrões analíticos de referência.

Ácido nítrico (Quimex, São Paulo, SP, Brasil) foi usado na digestão das ervas medicinais. Peróxido de hidrogênio 30% m/m (Synth, São Paulo, Brasil) foi usado como agente oxidante auxiliar.

Óxido de lantânio (Synth, São Paulo, Brasil) e ácido clorídrico (Quimex, São Paulo, Brasil) foram usados para preparar a solução de cloreto de lantânio usada na diluição dos digeridos e dos chás das ervas medicinais para determinação de Ca e Mg por FAAS.

Amostras

As folhas de Pariri (*Arrabidaea chica*), Aroeira (*Schinus molle*), Insulina (*Cissus sicyoides*), Unha de Gato (*Uncaria tomentosa*), Graviola (*Annona muricata*), Peão Branco (*Jatropha curcas*), Malva Branca (*Sida cryphiopetala*), Lacre (*Vismia guianensis*), Perpétua Branca (*Gomphrena globosa*) e Vinagreira Roxa (*Hibiscus sabdariffa*) foram adquiridas no Mercado do Ver-o-Peso em Belém-PA. Todas estas ervas foram produzidas na região metropolitana de Belém. A Tabela 1 apresenta as amostras com seus nomes populares, código de identificação e finalidade medicinal.

Foram adquiridas aproximadamente 1000 g de folhas frescas que foram lavadas com água desionizada e, posteriormente, secas em estufa à 40 °C até peso constante. As folhas das ervas medicinais já secas foram pulverizadas com auxílio de gral e pistilo e, em seguida, armazenadas em frascos de polietileno.

Procedimento analítico

Digestão das amostras

Uma massa de aproximadamente 0,5 g de folha seca pulverizada foi pesada e, em seguida, transferida para um tubo de digestão em triplicata. Um volume de 4 mL de HNO₃ 65% (v/v) e 2 mL de H₂O₂ 30% (m/m) foi adicionado em cada tubo de digestão contendo a amostra. Os tubos de digestão foram colocados no bloco digestor à 170 °C até digestão completa, quando não se observou nenhum resíduo.^{4,20}

Após o procedimento de digestão, os tubos foram retirados do bloco digestor e resfriados à temperatura ambiente. Após o resfriamento, os digeridos obtidos foram transferidos para frascos volumétricos e

Tabela 1. Amostras com seus nomes populares, código de identificação e finalidade medicinal

Nome	Amostra	Identificação	Finalidade
Pariri	Digerido Chá	PAD PAC	Anemia, diarreia, hemorragia, inflamação uterina
Aroeira	Digerido Chá	ARD ARC	Estômago, diarreia, gota, ínguas, bronquite
Insulina	Digerido Chá	IND INC	Diabetes, cora- ção, hipertensão, reumatismo, estômago, hemorroida
Unha de gato	Digerido Chá	UGD UGC	Reumatismo, artrite, próstata, útero, estô- mago, artrite, hemor- ragia, rinite
Graviola	Digerido Chá	GRD GRC	Diabetes, emagrecimen- to, artrite, asma, hip- ertensão, reumatismo, vermes intestinais
Peão branco	Digerido Chá	PED PEC	Diabetes, sinusite, hemorroida
Malva branca	Digerido Chá	MBD MBC	Dente, tosse
Lacre	Digerido Chá	LAD LAC	Emagrecimento, reu- matismo, ferimento por inseto
Perpétua branca	Digerido Chá	PBD PBC	Estômago, rim, tosse
Vinagreira roxa	Digerido Chá	VRD VRC	Erisipela, emagre- cimento, má digestão, hemorroida

os volumes ajustados para 50 mL com água desionizada. Os brancos analíticos foram preparados pelo mesmo procedimento sem a adição da amostra. Para análise de cálcio e magnésio, uma alíquota dos digeridos foi diluída com cloreto de lantânio 1% m/v.²¹

Preparação da infusão

Uma massa de aproximadamente 1,0 g de cada amostra foi pesada e, em seguida, foram adicionados 25 mL de água fervente. A infusão foi deixada em repouso até atingir a temperatura ambiente e, então, foi filtrada em papel de filtro quantitativo.^{22,23}

Análise elementar

Cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês e zinco foram determinados nos digeridos e nos chás por FAAS. O material de referência certificado GBW 07604 (Poplar Leaves) foi usado para validar o procedimento de preparo da amostra e as medidas no FAAS. O GBW07604 foi digerido pelo mesmo procedimento das folhas de ervas medicinais. O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram calculados usando-se 10 medidas do branco analítico, onde o LOD = 3 x s/m e o LOQ = 10 x s/m, sendo s o desvio padrão das medidas do branco analítico e m a inclinação da curva analítica usada na determinação dos elementos estudados (Tabela 2).²⁴⁻²⁷

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês e zinco determinadas nos digeridos de 10 ervas medicinais e seus chás por FAAS são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 2. Teores médios encontrados de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn com seus respectivos desvios padrão no material de referência certificado (GBW 07604) por FAAS e os limites de detecção e quantificação

Elementos	Material de referência certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$) \pm SD	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ca	18100	17900,4 \pm 4,5	1,00	4,00
Cu	9,3	8,8 \pm 0,4	0,34	1,15
Fe	274,0	263,9 \pm 8,6	0,91	3,04
Mg	6500	6590 \pm 5,0	0,10	0,30
Mn	45,0	49,7 \pm 1,6	0,27	0,92
Zn	37,0	37,4 \pm 0,4	0,40	1,30

Os níveis de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn obtidos nos digeridos das amostras variaram entre 1,9-26,3%; 4,0-10,6 $\mu\text{g g}^{-1}$; 99,1-345,2 $\mu\text{g g}^{-1}$; 0,14-1,6%; 9,6-154,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 9,4-216,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente (Tabela 3).

Os valores para Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn encontrados por outros autores para algumas plantas medicinais foram 0,3-3,4%;^{8,28} 1,4-24,4 $\mu\text{g g}^{-1}$;^{2,29} 44-9600 $\mu\text{g g}^{-1}$;⁶ 0,02-1,0%;^{4,17} 1,6-155 $\mu\text{g g}^{-1}$;^{30,17} e 0,19-221 $\mu\text{g g}^{-1}$.^{7,16} respectivamente.

Os níveis mais elevados de cálcio, entre as amostras estudadas, foram encontrados nos digeridos de insulina (IND), peão branco (PED), vinagreira roxa (VRD), pariri (PAD) e graviola (GRD). Os níveis mais elevados de magnésio foram obtidos nos digeridos de insulina (IND) e perpétua branca (PBD). Nestas amostras, os teores encontrados foram maiores que os valores obtidos por outros autores.^{2,6-8,17,28-30} Isto pode ser devido à composição química do solo, uso de fertilizantes ou até mesmo pela fisiologia do vegetal.^{31,32}

Tabela 3. Teores de metais e seus desvios-padrão ($n=3$) para as plantas estudadas

Amostras	Código	Ca (%)	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mg (%)	Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
Pariri	D	PAD	5,3 \pm 0,2	4,0 \pm 0,2	99,1 \pm 6,5	0,43 \pm 0,01	24,7 \pm 0,7	20,6 \pm 0,4
	C	PAC	2,4 \pm 0,1	0,62 \pm 0,03	<LOD	0,20 \pm 0,01	13,5 \pm 0,3	2,5 \pm 0,2
Aroeira	D	ARD	4,5 \pm 0,3	<LOD	185,6 \pm 3,7	0,61 \pm 0,02	12,4 \pm 0,7	19,3 \pm 1,0
	C	ARC	<LOD	<LOD	1,50 \pm 0,08	0,13 \pm 0,01	2,9 \pm 0,3	2,6 \pm 0,2
Insulina	D	IND	26,3 \pm 1,7	<LOD	285,5 \pm 1,4	1,54 \pm 0,07	<LOD	21,8 \pm 0,6
	C	INC	1,40 \pm 0,06	2,08 \pm 0,07	2,58 \pm 0,06	0,60 \pm 0,01	<LOD	2,8 \pm 0,4
Unha de gato	D	UGD	1,9 \pm 0,1	10,3 \pm 0,2	183,8 \pm 4,4	0,44 \pm 0,01	<LOD	13,3 \pm 0,1
	C	UGC	<LOD	<LOD	2,4 \pm 0,2	0,10 \pm 0,01	<LOD	1,2 \pm 0,1
Graviola	D	GRD	5,2 \pm 0,2	8,8 \pm 0,3	248,9 \pm 8,4	0,40 \pm 0,03	<LOD	19,5 \pm 1,6
	C	GRC	0,33 \pm 0,02	0,89 \pm 0,09	2,10 \pm 0,07	0,11 \pm 0,01	<LOD	2,60 \pm 0,04
Peão branco	D	PED	6,2 \pm 0,4	6,6 \pm 0,3	194,8 \pm 8,8	0,64 \pm 0,03	16,3 \pm 1,0	21,0 \pm 2,4
	C	PEC	<LOD	2,1 \pm 0,2	<LOD	0,05 \pm 0,01	<LOD	7,3 \pm 0,6
Malva branca	D	MBD	<LOD	5,1 \pm 0,3	345,2 \pm 10,5	0,24 \pm 0,02	52,8 \pm 1,2	26,8 \pm 0,3
	C	MBC	<LOD	0,55 \pm 0,03	2,7 \pm 0,4	0,03 \pm 0,01	9,4 \pm 1,1	3,3 \pm 0,3
Lacre	D	LAD	<LOD	10,6 \pm 0,1	128,4 \pm 3,8	0,14 \pm 0,04	9,6 \pm 0,3	32,8 \pm 0,6
	C	LAC	<LOD	1,17 \pm 0,03	2,13 \pm 0,08	<LOD	3,4 \pm 0,2	4,7 \pm 0,2
Perpétua branca	D	PBD	4,62 \pm 0,07	9,7 \pm 0,1	243,4 \pm 7,2	1,6 \pm 0,1	154,7 \pm 1,2	216,2 \pm 2,3
	C	PBC	<LOD	<LOD	19,9 \pm 3,5	0,95 \pm 0,02	49,1 \pm 0,7	60,7 \pm 3,8
Vinagreira Roxa	D	VRD	6,1 \pm 0,2	8,2 \pm 0,7	272,1 \pm 1,0	1,20 \pm 0,01	<LOD	9,4 \pm 1,1
	C	VRC	0,9 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	30,2 \pm 1,6	0,76 \pm 0,06	<LOD	8,81 \pm 0,08

D = Digerido; C = Chá; LOD = Limite de detecção

As concentrações obtidas para Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn nos chás variaram de 0,3-2,4%; 0,55-2,1 $\mu\text{g g}^{-1}$; 1,50-30,2 $\mu\text{g g}^{-1}$; 0,03-0,95%; 2,9-49,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 1,2-60,7 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

Os teores encontrados para os chás de plantas medicinais estudadas por outros autores variaram entre 0,014-4,0% para Ca;²⁸ 1,2-8,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Cu;²⁸ 1,4-59,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Fe;^{22,28} 0,002-0,9% para Mg;^{16,28} 9,6-741,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Mn²⁸ e 2,7-50,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Zn.²⁸ Vale ressaltar que neste estudo foi usado apenas 1,0 g de planta seca para 25 mL de água desionizada para fins experimentais. Sendo assim, pode-se estimar que em uma xícara de chá (200 mL) a população amazônica pode consumir cerca de 4,0 a 8,0 g de folha seca por dia.

Os menores valores de cobre nos chás estudados foram encontrados para as amostras de lacre (LAC), graviola (GRC), pariri (PAC), malva branca (MBC) e vinagreira roxa (VRC). Para o manganês, os menores níveis foram obtidos para malva branca (MBC), lacre (LAC) e aroeira (ARC). As amostras que apresentaram baixos teores para zinco foram aroeira (ARC), graviola (GRC), pariri (PAC) e unha de gato (UGC). A amostra de perpétua branca (PBC) teve um valor alto para o zinco.

Os teores encontrados nos chás foram menores quando comparados às concentrações obtidas para os mesmos elementos nos digeridos das folhas de ervas medicinais estudadas. Entre as amostras de chás analisadas destaca-se a Vinagreira Roxa (VRC) que apresentou as maiores concentrações de ferro, magnésio e zinco, enquanto na amostra Perpétua Branca (PBC) foram obtidos altos níveis de cobre, ferro e magnésio.

Os resultados obtidos foram autoescalados, recurso utilizado em análise estatística onde se centram os dados na média e divide-se cada um pelo desvio padrão, de forma que todas as variáveis passam a ter a mesma importância, ou seja, o mesmo peso. Em seguida, os valores recalculados foram submetidos aos métodos de análise de componentes principais (PCA) para a classificação de 20 amostras,

3. Soomro, M. T.; Zahir, E.; Mohiuddin, S.; Khan, A. N.; Naqvi, I. I.; *Pak. J. Biol. Sci.* **2008**, *11*, 285.
4. Reis, P. S.; Estevam, I. H. S.; Santos, W. P. C.; Korn, M. G. A.; David, J. M.; David, J. P.; Araújo, R. G. O.; Pimentel, M. F.; Ferreira, S. L. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 1905.
5. da Silva, K. L.; Cechinel Filho, V.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 449.
6. Olabanji, S. O.; Omobuwajo, O. R.; Ceccato, D.; Adebajo, A. C.; Buoso, M. C.; Moschini, G.; *Nucl. Instr. Meth. Phys.* **2008**, *266*, 2387.
7. Kalny, P.; Fijalek, Z.; Daszczuk, A.; Ostapczuk, P.; *Science of the Total Environment*. **2007**, *381*, 99.
8. Konieczynski, P.; Wesolowski, M.; *Food Chem.* **2007**, *103*, 210.
9. Zand, N.; Chowdhry, B. Z.; Zotor, F. B.; Wray, D. S.; Amuna, P.; Pullen, F. S.; *Food Chem.* **2011**, *128*, 123.
10. Maas, S.; Lucot, E.; Gimbert, F.; Crini, N.; Badot, P. M.; *Food Chem.* **2011**, *129*, 7.
11. Silva, J. J. R. F.; Williams, R. J. P.; *The biological chemistry of the elements - The inorganic chemistry of life*, 2nd ed., Oxford University Press: New York, 2001.
12. Wuilloud, R. G.; Kannamkumarath, S. S.; Caruso, J. A.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *379*, 495.
13. Franco, G.; *Tabela de Composição Química dos Alimentos*, 9^a ed., Atheneu: São Paulo, 2005.
14. Sousa, R. A.; Borges Neto, W.; Popi, R. J.; Baccan, N.; Cadore, S.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 654.
15. Kolasani, A.; Xu, H.; Milikan, M.; *Food Chem.* **2011**, *127*, 1465.
16. Almeida, M. M. B.; Lopes, M. F. G.; Nogueira, C. M. D.; Magalhães, C. E. C.; Morais, N. M. T.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2002**, *22*, 94.
17. Razic, S.; Onjia, A.; Đogo, S.; Slavkovi´, L.; Popovic, A.; *Talanta* **2005**, *67*, 233.
18. El-Rjoob, A. O.; Massadeh, A. M.; Omari, M. N.; *Environ. Monit. Assess.* **2008**, *140*, 61.
19. Chuparina, E. V.; Aisueva, T. S.; *Environ. Chem. Lett.* **2011**, *9*, 19.
20. Silva, C. S.; Nunes, P. O.; Mescouto, C. S. T.; Müller, R. C. S.; Palheta, D. C.; Fernandes, K. G.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2010**, *30*, 751.
21. Nascentes, C. C.; Korn, M.; Arruda, M. A. Z.; *Microchem. J.* **2001**, *69*, 37.
22. Amarante, C. B.; Silva, J. C. F.; Müller, R. C. S.; Müller, A. H.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 419.
23. Weber, G.; Konieczny ski, P.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, *375*, 1067.
24. Jalbani, N.; Ahmed, F.; Kazi, T. G.; Rashid, U.; Munshi, A. B.; Kandhro, A.; *Food Chem. Toxicol.* **2010**, *48*, 2737.
25. Ribani, M.; Botolli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 771.
26. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; *Princípios de Análise Instrumental*, 5^a ed., Bookman: Porto Alegre, 2002.
27. Harris, D. C.; *Análise Química Quantitativa*, 6^a ed., LTC: Rio de Janeiro, 2005.
28. Nookabkaew, S.; Rangkadilok, N.; Satayavivad, J.; *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 6939.
29. Ajasa, A. M. O.; Bello, M. O.; Ibrahim, A. O.; Ogunwande, I. A.; Olawore, N. O.; *Food Chem.* **2004**, *85*, 67.
30. Meena, A. K.; Bansal, P.; Kumar, S.; Rao, M. M.; Garg, V. K.; *Environ. Monit. Assess.* **2010**, *170*, 657.
31. Kopittke, P. M.; Blamey, F. P. C.; Asher, C. J.; Menzies, N. W.; *J. Experimental Botany* **2010**, *61*, 945.
32. Karak, T.; Bhagat, R. M.; *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 2234.