

Determinação da Propriedade Antioxidante e Teores de Minerais Presentes nas Folhas de *Azadirachta indica* A. Juss.

Determination of Antioxidant Property and Minerals Contained in the Leaves of *Azadirachta indica* A. Juss.

*^{1,2}Denise P. Emerenciano; ¹Angela Maria F. da Cruz; ²Joherbson Deivid dos S. Pereira; ¹Maria de Fátima V. Moura; ^{2,3}Maria Aparecida M. Maciel

1 Laboratório de Métodos Analíticos Fundamentais e Aplicados, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Av. Sen. Salgado Filho, 1610, Lagoa Nova, CEP 59078-970, Natal, RN, Brasil.

2 Laboratório de Tecnologia em Tensoativos, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Av. Sen. Salgado Filho, 1610, Lagoa Nova, CEP 59078-970, Natal, RN, Brasil.

3 Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, PPGB - UnP, Universidade Potiguar Laureate International Universities, Av. Sen. Salgado Filho, 1610, Lagoa Nova, CEP 59056-000, Natal, RN.

*Correspondência: e-mail: deniseemerenciano@yahoo.com.br

Resumo

O mercado farmacêutico atual, volta sua atenção para medicamentos de origem vegetal e suas inovações tecnológicas. Neste contexto, inclui-se a espécie *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) popularmente conhecida como *neem*, uma planta nativa da Índia, com ampla aplicação fitoterápica. Neste trabalho, aspectos químicos e farmacológicos desta planta são discutidos, bem como sua propriedade antioxidante e métodos usados para determinar micro e macronutrientes. Para tanto, obteve-se o extrato hidroalcoólico das folhas de *A. indica* (EAI) e a propriedade antioxidante foi avaliada pelo método do fosfomolibdênio de amônio. O resultado obtido (26,5 %) foi relacionado com a propriedade antioxidante do ácido ascórbico, podendo ser justificado pela presença de compostos polares presentes no extrato EAI, com destaque para azadiractina, nimbina e salanina. Os resultados obtidos para a determinação dos teores de umidade, cinzas e minerais (cálcio, chumbo, cobre, cromo, ferro, magnésio, manganês, níquel, potássio, sódio e zinco) nas folhas de *A. indica*, foram 68,0 % de umidade, 12,3 % de cinzas e dentre os minerais detectados, o cálcio apresentou maior percentual (73,0 %), seguido de potássio (15,0 %), magnésio (11,0 %), e sódio (1,0 %). Aspectos correlacionados com os teores de minerais e suas importâncias nos metabolismos dos vegetais, também são objetos de discussão.

Palavras-chave: *Azadirachta indica*; Extrato Hidroalcoólico; Aspectos Químicos e Farmacológicos.

Abstract

The pharmaceutical industry turned its attention to medicines of plant origin, which include plant extracts. In this context, it becomes significant to complete characterization of species for medical use, for example, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) popularly known as *neem*, a native plant of India, with significant medicinal applications. In this work, chemical and pharmaceutical aspects of this plant are discussed and, an antioxidant property and methods to determine micronutrients and macronutrients were applied to its leaves. The antioxidant property evaluation was realized by analysis of the hydroalcoholic extract of the leaves of *A. indica* (EAI) using the phosphomolybdenum method. Ascorbic acid was considered to be the maximal (100 %) antioxidant value. The obtained result for EAI was 26 % of the antioxidant activity of ascorbic acid, which can be explained by the presence of polar compounds such as azadirachtin, nimbin and salannin. The results for determination of humidity, ashes and

minerals (calcium, lead, copper, chromium, iron, magnesium, manganese, nickel, potassium, sodium and zinc) in leaves of *A. indica*, were 68.0 % humidity, 12.3 % of ashes and among the mineral contents calcium showed the highest percentage (73.0 %), followed by potassium (15.0 %) magnesium (11.0 %), and sodium (1.0 %). Aspects correlated to percentages of minerals and the importances to the metabolism of plants are also discussed.

Key words: *Azadirachta indica*; Hydroalcoholic Extract; Chemical and Pharmacological Aspects.

Introdução

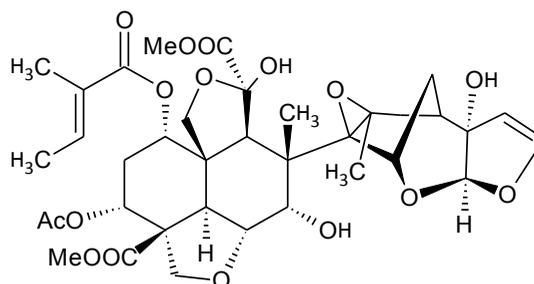
O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos localizados em todo o mundo. Em um contexto abrangente, as plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e farmácias de manipulação e detêm 25 % dos medicamentos do mercado farmacêutico. Nos últimos 20 anos, o progresso científico de pesquisas com produtos naturais possibilitou avanços nos estudos químicos e farmacológicos de inúmeras plantas utilizadas para fins medicinais (Maciel et al., 2002).

Azadirachta indica A. Juss. (sinonímia *Melia azadirachta* L.), conhecida no vernáculo como *neem*, é amplamente distribuída na Ásia, África e outras partes tropicais do mundo. Esta planta vem sendo utilizada na medicina indígena para o tratamento de várias doenças humanas, especialmente contra enfermidades originárias de bactérias e fungos (Luo et al., 2000). Estudos científicos desenvolvidos por vários grupos de pesquisa em todo o mundo possibilitaram o isolamento e elucidação estrutural de mais de 100 metabólitos de *A. indica*, dentre eles destaca-se o metabólito de maior teor tóxico denominado de azadiractina (FIGURA 1), um tetranortriterpenóide (Soon e Bottrell, 1994). Esta substância é encontrada em todas as partes da planta, com maior teor nas sementes (Teixeira, 2012). Apesar de *Azadirachta indica* ser conhecida pela presença do pesticida azadiractina, não se tem registros de toxicidade em humanos, pela ingestão desta espécie vegetal. A avaliação do efeito tóxico de azadiractina foi realizada por Boeke e colaboradores (2004) e de acordo com esta pesquisa, não se detectou efeitos adversos para humanos e em outros trabalhos, ficou esclarecido que este metabólito por ser biodegradável, não oferece danos ao meio ambiente (Coats, 1994; Boeke et al., 2004; Mossini e Kimmelmeier, 2005; Oliveira et al., 2009). Devido à espécie *A. indica* ser considerada um pesticida natural eficaz, a sua utilização na pecuária é uma alternativa para substituir compostos de natureza sintética, rotineiramente utilizados no controle de parasitos de animais (Oliveira et al., 2009). Mossini e Kimmelmeier (2005) relataram que *A. indica* como alimento de cabra, foi considerado uma excelente fonte protéica, porém pode provocar a formação de microcálculos nos rins. No entanto, de acordo com Coats

(1994), os efeitos tóxicos desta planta em mamíferos ocorrem apenas em doses elevadas.

De fato, na África e no Caribe, os usuários desta espécie medicinal, principalmente crianças, ingerem seus frutos maduros como alimento. Na Índia, desde os tempos mais remotos, as folhas de *neem* são consumidas para o preparo de chá e em menor escala, como alimento. Curiosamente, os animais domésticos também se alimentam destas folhas (Teixeira, 2012).

Figura 1 - A estrutura química de azadiractina



Relatos da literatura mostram a ampla diversidade de funções biológicas de *Azadirachta indica*, dentre elas encontram-se as atividades antiinflamatória, anticâncer, hipolipidêmica e hepatoprotetora (Mossini e Kimmelmeier, 2005; Franco et al., 2011). Também possui atividade anticarcinogênica supostamente por auxiliar os sistemas de defesa antioxidantes celulares (Biswas et al., 2002).

A cadeia transportadora de elétrons na membrana mitocondrial é a principal fonte de ATP em células de mamíferos, fato pelo qual a torna essencial à vida. Durante a fosforilação oxidativa uma pequena fração de todo o oxigênio consumido pela mitocôndria sofre redução incompleta gerando radicais livres que podem atacar a própria organela, motivo pelo qual a mitocôndria é um excelente modelo para estudos de estresse oxidativo (Lopes, Paiva e Rodrigues, 2009), desequilíbrio do organismo ocasionado pelo excesso de radicais livres, que são, na maioria das vezes, espécies reativas de oxigênio (ERO), que possuem um elétron desemparelhado na última camada de valência. Ao serem formadas, estas espécies reativas reagem rapidamente com outro radical ou com outra

molécula por vários mecanismos, sendo que a velocidade e a especificidade dessas reações dependem da concentração do radical, de sua reatividade e da localização do elétron desemparelhado (Valko et al., 2007). Várias doenças são frequentemente associadas com o estresse oxidativo, em que as biomoléculas, tais como proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, são atacadas por radicais livres, podendo originar vários distúrbios, como envelhecimento precoce, processos inflamatórios, disfunção cerebral, doenças do coração, câncer e outros danos (Prieto, Pineda e Aguilar, 1999).

Partindo destas informações, e levando-se em consideração que plantas são ricas em minerais, que podem contribuir para o equilíbrio do organismo, e quando em excesso, podem causar possíveis distúrbios; no presente trabalho, relata-se a determinação da propriedade antioxidante, umidade, cinzas e identificação de minerais e seus teores para a espécie *Azadirachta indica* A. Juss.

Alguns minerais como o ferro, cobre, zinco, manganês e magnésio são considerados essenciais às plantas. O magnésio presente na estrutura da clorofila é fundamental para absorção de energia solar do vegetal. No entanto, quando são absorvidos pelas plantas em condições desfavoráveis (adubação inapropriada, por exemplo), podem alterar significativamente a formação de metabólitos secundários de espécies vegetais, que podem ser os agentes biológicos responsáveis pelas suas atividades biológicas (Valmorbida et al., 2007). Para animais em geral, a ingestão de plantas pode resultar na transferência de espécies metálicas que se acumulam em todos os tecidos vegetais, comprometendo a qualidade da cadeia alimentar. Citando apenas um exemplo, o chumbo, que pode ser absorvido pelo organismo por via inalatória ou oral, é extremamente nocivo ao organismo animal, mesmo sendo ingerido em pequenas quantidades. Em organismo humano, este metal inibe a enzima que catalisa uma etapa essencial na produção de hemoglobina, causando a anemia crônica, além disso, não apresenta nenhuma função biológica sendo, portanto, absorvido, distribuído e excretado sem nenhuma ação biológica saudável (Bonato et al., 1998; Maiga et al., 2005; Franco et al., 2011).

O solo em que a planta se encontra, é um fator importante na absorção de espécies metálicas, já que consiste em uma mistura de materiais minerais e orgânicos que propiciam um ambiente fundamental ao crescimento do vegetal (Malavolta et al., 2006). Quando as quantidades dos minerais encontrados nas plantas excedem aos valores recomendados pela legislação, isso pode ser indício de contaminação do

solo, água, dentre outros. Recentemente, no Brasil estabeleceu-se uma legislação nacional sobre teores permissíveis de metais em solos. Os valores orientadores para solos utilizados na agricultura, de acordo com esta legislação (CONAMA, 2009), indicam que o teor máximo permitido para os minerais chumbo, cobre, cromo, níquel, e zinco, são respectivamente: 180, 200, 150, 70 e 450 ppm. No que se refere à ingestão de plantas e os seus riscos toxicológicos em função dos teores de minerais, a ingestão diária recomendada (IDR) para homens adultos estabelecidos pela ANVISA (1998), para os minerais: cálcio, cobre, cromo, ferro, magnésio, manganês e zinco, são respectivamente: 800 mg, 3 mg, 200 µg, 14 mg, 300 mg, 5 mg e 15 mg.

Apesar dos avanços científicos voltados para os estudos com plantas medicinais e as exigências dos órgãos fiscalizadores, os índices de fontes naturais utilizadas empiricamente é significativo, com amplos relatos de toxicologia que podem ser irreversíveis (Maciel et al., 2002; Veiga Jr., Pinto e Maciel, 2005; Viegas Jr., Bolzani e Barreiro, 2006). Neste contexto, análises de micro e macronutrientes vinculadas ao controle de qualidade de minerais tornam-se relevantes para a comercialização segura de fitoterápicos em geral. Neste contexto, objetivando-se contribuir com as pesquisas desenvolvidas com a espécie medicinal *Azadirachta indica*, amplamente comercializada em todo o mundo, realizaram-se neste trabalho, análises que avaliaram os teores de umidade, cinzas, minerais, e propriedade antioxidante como se encontram descritos a seguir.

Materiais e Métodos

Material Vegetal: coleta, identificação botânica e secagem

As folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. (FIGURA 2) foram coletadas no Campus da UFRN, Natal-RN, em Fevereiro de 2011. A identificação botânica foi realizada pelo Professor Dr. Jomar Gomes Jardim, com exsiccata de número 6400, depositada no herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. As análises de umidade foram realizadas de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Amostras (10 g, em triplicata) foram secas em estufa com ventilação (Quimis Q314M) a 105°C, por 24h, com etapas subsequentes de aquecimentos e resfriamentos (à temperatura ambiente em dessecador), com intervalos de 1 h, seguido de pesagens (até massa constante).

Figura 2: Fotografia representativa de folha de *A. indica*



Determinação dos Minerais por ICP-OES e Análise Estatística

Para a determinação dos teores de minerais, 5 g de folhas secas foram trituradas e calcinadas em forno mufla (EDG 3P-S Tecnal 3000) à temperatura de 550°C durante 6h, até decomposição de toda a matéria orgânica. As cinzas obtidas foram solubilizadas em 5 mL de ácido nítrico P.A. tendo sido transferidas para balões volumétricos, completando-se o volume de 100 mL com água destilada. As soluções obtidas a partir das cinzas foram analisadas para os seguintes minerais: cálcio (Ca), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn), níquel (Ni), potássio (K), sódio (Na) e zinco (Zn), utilizando-se a técnica de espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) da marca Thermo Analítica modelo iCAP 6300, procedimento descrito em SW-846 USEPA 6010C (USEPA, 2007), com análises realizadas em triplicata. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para cada mineral estão descritos na TABELA 1. A análise estatística para comparação dos resultados expressos em médias e desvio padrão (\pm) das médias obtidas para as amostras avaliadas foi realizada utilizando-se ANOVA com teste t (LSD) $p < 0,05$.

Obtenção do Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *A. indica* (EAI)

Para obtenção do extrato hidroalcoólico (EAI), o material vegetal (folhas) de *Azadirachta indica* (225,26 g), previamente seco (40°C) e triturado, foi submetido a extrações via percolação (24 h), com etanol/água (7:3), sendo utilizados 5 litros de solvente. Ao término, o extrato hidroalcoólico foi filtrado e concentrado em evaporador rotativo (Simões et al., 2010).

Determinação da Propriedade Antioxidante do EAI

Os ensaios para determinar o potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico das folhas de *A. indica* (EAI) foram realizados utilizando-se o método do fosfomolibdênio de amônio, que consiste na formação do complexo de fosfomolibdênio em meio aquoso, com coloração amarela, quando oxidado, e verde à medida que é reduzido por substâncias antioxidantes. A coloração verde é mais intensa quanto maior for a propriedade antioxidante da amostra. Em comparação, utilizou-se uma solução padrão de ácido ascórbico (vitamina C) (Prieto, Pineda e Aguilar, 1999).

A reação para formação do complexo fosfomolibdênio requer o preparo de um reativo, que consistiu em uma solução com fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (28 mL), molibdato de amônio 0,03 mol L⁻¹ (12 mL) e ácido sulfúrico 3 mol L⁻¹ (20 mL), sendo o volume completado com água para 100 mL. A solução padrão de ácido ascórbico, assim como as amostras, foram preparadas na concentração de 200 µg mL⁻¹ (Bianco, 2003).

A partir das soluções preparadas de cada amostra e do padrão (200 µg mL⁻¹), retirou-se uma alíquota de 0,4 mL, que foi transferida para um tubo de ensaio e adicionaram-se 4 mL de reativo (a solução descrita acima). Um branco foi constituído a partir de 0,4 mL de água destilada e 4 mL de reativo. As análises foram feitas em triplicata, com os tubos hermeticamente fechados. Os tubos foram incubados por 90 minutos a 95°C e depois resfriados até temperatura ambiente. Após isso, procederam-se as leituras das absorbâncias em 695 nm em espectrofotômetro de UV/Vis (Thermo Electron Corporation/Nicolet Evolution 100). A ação antioxidante das amostras foi expressa em relação ao ácido ascórbico, considerando que o valor de sua absorbância corresponde a 100 % de ação antioxidante, de acordo com a FIGURA 3 (Prieto, Pineda e Aguilar, 1999).

Figura 3 - Fórmula utilizada para o cálculo da propriedade antioxidante

$$\%AA = \frac{A_{amostra} - A_{branco}}{A_{padrão} - A_{branco}} \times 100$$

Em que, $A_{amostra}$ é a absorbância de cada amostra, A_{branco} é a absorbância do branco e $A_{padrão}$ é a absorbância do padrão (ácido ascórbico).

Resultados e Discussão

A implementação de padrões de qualidade organolépticas, físico-químicas, microbiológicas e fitoquímicas que venham a atender ao mercado consumidor de fitoterápicos encontram-se inserida nos requisitos estabelecidos pela ANVISA que é o órgão nacional que controla a comercialização de medicamentos em geral (ANVISA, 1976). Em um contexto abrangente para as comercializações de plantas medicinais em feiras livres, por exemplo, não existem parâmetros estabelecidos que avaliem a qualidade do vegetal (Braga et al., 2007). Os resultados obtidos no presente trabalho encontram-se voltados para o enriquecimento de informações sobre a espécie medicinal *Azadirachta indica* que representa uma espécie medicinal amplamente comercializada em todo o mundo.

Como parte inicial do trabalho avaliou-se o percentual de umidade das folhas desta planta, tendo sido evidenciado em função do elevado teor de umidade obtido (68,03 % \pm 0,02) que podem sofrer contaminação por fungos e bactérias, portanto, devem ser submetidas a processos de secagem adequados. Este teor está acima do obtido por Kashif e Ullah, (2013) (10,30 % \pm 0,28). Na sequência, utilizou-se uma amostra (5,00 g \pm 0,09) da massa seca resultante (31,97% \pm 0,02) que após procedimento de calcinação, apresentou um percentual de cinzas de 12,28 %, (0,61 g \pm 0,09), percentual é semelhante ao encontrado para outras plantas, como por exemplo, o percentual obtido para as folhas secas de *Ipomoea*

pes-caprae (L.) R.Br., 12,51 % (Barni, Cechinel Filho e Couto, 2009). As cinzas em soluções aciduladas foram submetidas às análises de ICP-OES que avaliaram os teores dos seguintes minerais: Ca, Pb, Cu, Cr, Fe, Mg, Mn, Ni, K, Na e Zn. Na TABELA 1 encontram-se descritos os valores em mg 100 g⁻¹ dos minerais identificados, tendo sido comprovado um percentual maior para o cálcio (73,0 %; 166,90 mg 100 g⁻¹ \pm 1,27), em comparação, aos percentuais minoritários observados para o potássio (15,0 %; 35,65 mg 100 g⁻¹ \pm 0,42), magnésio (11,0 %; 24,34 mg 100g⁻¹ \pm 0,69) e sódio (1,0 %; 2,38 mg 100 g⁻¹ \pm 0,23) (FIGURA 4). Outros minerais, tais como Pb, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni e Zn apresentaram massas percentuais abaixo de 1,0 %.

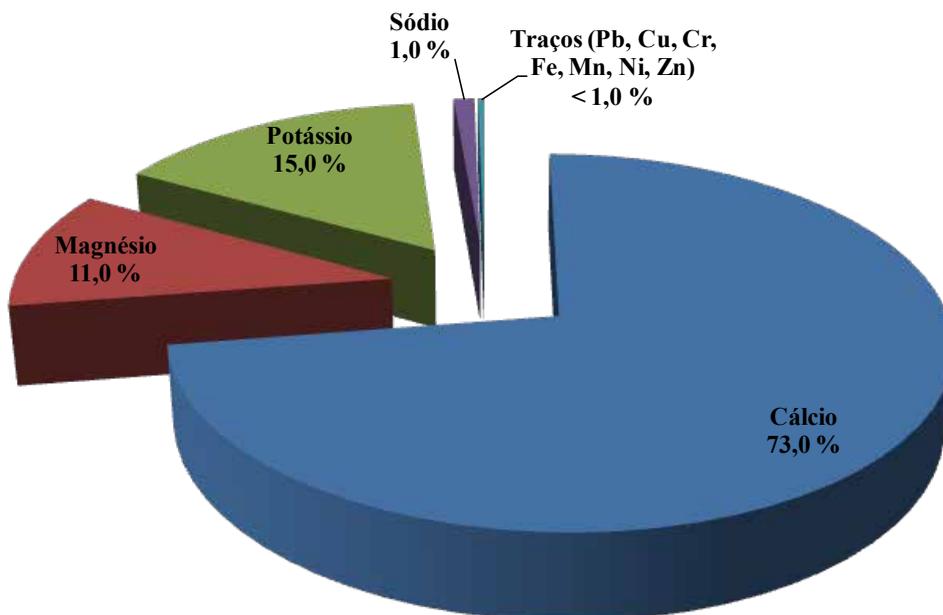
Sahito e colaboradores (2003) determinaram os teores dos minerais sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro, zinco, cobalto, cromo, níquel cobre, chumbo, cádmio, bário e alumínio em folhas de *A. indica*, pelo método de absorção atômica, tendo sido observado que os teores de chumbo (0,1270 mg 100 g⁻¹), níquel (0,2950 mg 100 g⁻¹), sódio (1355,90 mg 100 g⁻¹), cálcio (1393,60 mg 100 g⁻¹) e potássio (1415,35 mg 100 g⁻¹), encontram-se acima dos teores obtidos no presente trabalho (TABELA 1). Em outro trabalho, desenvolvido por Neves e Colaboradores(2013) determinaram-se os teores de alguns minerais, e concluiu-se que independente dos teores dos nutrientes presentes nos solos analisados, *Azadirachta indica* é uma espécie que absorve preferencialmente, nitrogênio, fósforo e cálcio. No entanto, apenas para o potássio houve correlação positiva entre o teor

Tabela 1: Determinação dos teores de minerais encontrados nas folhas de *A. indica*

Minerais	Média (mg 100 g ⁻¹)	Desvio Padrão (\pm)	LD*	DQ**
Cálcio (Ca)	166,9000	1,2728	0,3333	1,0000
Chumbo (Pb)	0,0077	0,0015	0,0033	0,0010
Cobre (Cu)	0,0304	0,0010	0,0033	0,0010
Cromo (Cr)	0,0199	0,0099	0,0033	0,0010
Ferro (Fe)	0,5243	0,0653	0,3333	1,0000
Magnésio (Mg)	24,3400	0,6879	0,3333	1,0000
Manganês (Mn)	0,0628	0,0002	0,0033	0,0010
Níquel (Ni)	0,0072	0,0004	0,0033	0,0010
Potássio (K)	35,6533	0,4203	0,3333	1,0000
Sódio (Na)	2,3777	0,2308	0,3333	1,0000
Zinco (Zn)	0,0797	0,0031	0,0033	0,0010

*LD - Limite de detecção em mg L⁻¹, **LQ - Limite de quantificação em mg L⁻¹

Figura 4 - Gráfico representativo dos teores de minerais encontrados nas folhas de *A. indica*



obtido no solo e o teor determinado nas folhas inferiores da parte média da planta. Também se verificou que em função do teor elevado de cálcio (superiores a 14,8 mg 100 g⁻¹; detectado nas folhas de espécies provenientes de diferentes locais) *A. indica* é uma espécie calcícola (medianamente as espécies apresentam teores foliares de Ca na faixa 15,7 a 22,7 mg 100 g⁻¹).

A análise estatística (ANOVA) foi empregada para obtenção do coeficiente de correlação de Pearson (ρ), que indica a relação entre duas variáveis lineares com valores 1 e -1. Nesta análise, os sinais positivos e negativos indicam a direção e a dimensão que a variável informa sobre a força de correlação. Valores de ρ maiores que 0,70 (+ ou -) indicam correlação significativa, valores entre 0,30 e 0,70 (+ ou -) indicam correlação moderada e fraca correlação para a faixa entre 0,00 e 0,30. Desta forma, a correlação de Pearson entre os metais avaliados, revelou correlação positiva para Fe e K (0,31), Cu e Fe (0,99), Cu e Zn (0,98) e Cu e K (0,41) (TABELA 2).

À medida que a planta absorve um mineral, possivelmente carrega outro, como exemplo, ao absorver o potássio, a planta também absorverá Cu e Fe. Correlações negativas foram observadas entre K e Ca (-0,87) e K e Mg (-0,83). Dessa forma, no cultivo de *A. indica*, o solo não pode ser rico em K, que em percentuais elevados inibirá as absorções de Ca e Mg.

Biondi e Colaboradores (2011) avaliaram os teores dos minerais Fe, Mn, Zn, Cu, Ni e Co presentes em solos de Pernambuco/BR, tendo sido observado correlação linear de Pearson (ρ) entre teores dos minerais e propriedades dos solos. De acordo com os resultados obtidos, comprovou-se que há um baixo potencial de liberação de Cu, Co e Ni, dos solos para plantas em geral, enquanto para Zn, Fe e Mn as deficiências são menos prováveis.

Almeida Junior (2010) também avaliou por meio de correlação de Pearson, o efeito da adubação orgânica em solos e os teores de minerais em plantas. Neste estudo, houve correlação positiva entre a matéria seca da parte aérea da cana-de-açúcar e os minerais N, P, K, Cu, Zn e Al que estavam presentes no solo. Uma correlação negativa foi observada entre pH do solo da planta. Para a matéria seca da raiz desta planta, não foram verificadas correlações significativas.

O extrato hidroalcoólico obtido das folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) (EAI) apresentou o rendimento de extração de 36,7 %. A propriedade antioxidante do EAI foi avaliada pelo método do fosfomolibdênio de amônio, comumente utilizado para comparar a capacidade antioxidante de diversos extratos, além de ser simples e de baixo custo (Rocha et al., 2007; Morais et al., 2009; Negri, Possamai e Nakashima, 2009; Nunes, 2011;).

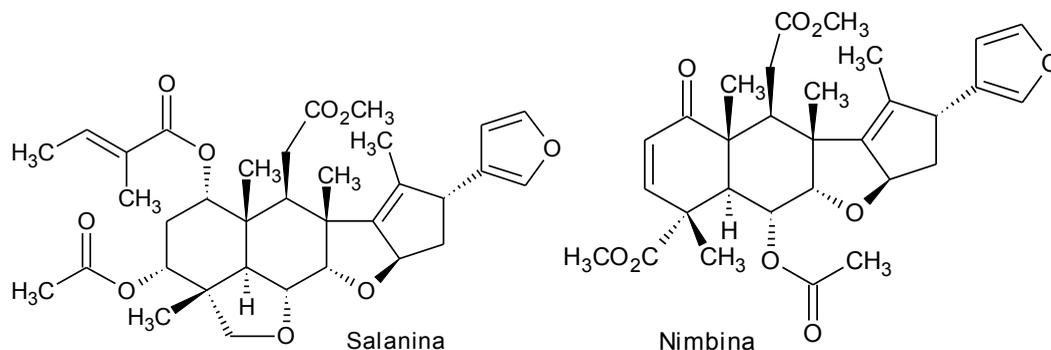
Tabela 2 - Coeficientes de correlação de Pearson observados nas folhas de *A. indica*

Metal/Metal*	Ca	Pb	Cu	Cr	Fe	Mg	Mn	Ni	K	Na	Zn
Ca	1,00**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb	-0,77	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cu	-0,81	1,00	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-
Cr	-0,93	0,95	0,97	1,00	-	-	-	-	-	-	-
Fe	-0,74	1,00	0,99	0,94	1,00	-	-	-	-	-	-
Mg	1,00	-0,81	-0,85	-0,96	-0,79	1,00	-	-	-	-	-
Mn	-0,30	-0,38	-0,32	-0,07	-0,42	-0,23	1,00	-	-	-	-
Ni	-0,30	-0,38	-0,32	-0,07	-0,42	-0,23	1,00	1,00	-	-	-
K	-0,87	0,35	0,41	0,62	0,31	-0,83	0,73	0,73	1,00	-	-
Na	-0,07	0,69	0,64	0,43	0,72	-0,14	-0,93	-0,93	-0,44	1,00	-
Zn	-0,67	0,99	0,98	0,89	0,99	-0,72	-0,51	-0,51	0,20	0,79	1,00

*Todos os valores possuem um nível de 95% de confiança

**Os valores em vermelho indicam forte correlação ± entre os minerais

Figura 5 - Estrutura de limonóides bioativos encontrados nas folhas de *A. indica*



O resultado antioxidante obtido para o EAI apresentou um percentual antioxidante de 26,50 %, que pode ser justificado pela maior concentração de compostos polares presentes no extrato, como é o caso da azadiractina (FIGURA 1), nimbina, salanina, dentre outros (FIGURA 5) (Kraus et al., 1987; Mourão et al., 2004).

Conclusões

O cultivo de plantas comestíveis ou de uso medicinal deve ser rigoroso em função da quantidade de minerais presentes no solo, já que podem alterar os percentuais de metais presentes nas plantas, e ainda, interferir em seus metabolismos, podendo interferir

ainda, em suas atividades biológicas (Amaral et al., 2003; Braga et al., 2007; Franco et al., 2011; Santiago et al., 2011).

Para a *Azadirachta indica* A. Juss. comprovou-se quantidade majoritária de cálcio (73,0 %) seguida dos minerais potássio (15,0 %), magnésio (11,0 %) e sódio (1,0 %). Pela correlação de Pearson, observou-se que a medida que a planta absorve um mineral (Fe, K, Cu, Zn e K) positivamente possibilita o efeito sinérgico de absorção dos outros metais via absorção positiva. Para os metais K, Ca e Mg, observou-se correlações negativas, portanto, quando um fertilizante rico em potássio for administrado para *A. indica*, estima-se que haja redução na absorção destes minerais. Desta forma, dependendo da finalidade

da utilização da planta, pode-se manipular o tipo de fertilizante, favorecendo a absorção de nutrientes específicos.

Em função do elevado teor de umidade (68,0 %) as folhas de *A. indica* devem ser comercializadas de forma desidratada, objetivando-se a preservação dos seus metabólitos especiais, evitando-se a proliferação de fungos e bactérias que podem favorecer a produção de substâncias tóxicas, tornando o vegetal impróprio ao consumo.

A partir desta pesquisa foi possível comprovar que o extrato hidroalcoólico das folhas da espécie vegetal *Azadirachta indica* apresentou potencial antioxidativo significativo (26,5 %), quando comparado a outras espécies vegetais, como por exemplo *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa), em que para o mesmo método, extrato bruto das folhas apresentou 30,0 % de ação antioxidante (Pessuto, 2006; Negri, Possamai e Nakashima, 2009). No entanto, o extrato aquoso das cascas de *Lafoensia pacari* (dedaleiro), a propriedade antioxidante (método de fosfomolibdênio de amônio), apresentou resultado muito inferior (5,0 %) (Campos e Frasson, 2011). Levando em consideração este resultado comparativo, bem como dados de atividade biológica atribuídos para *A. indica*, novas investigações farmacológica estarão sendo realizadas com o extrato hidroalcoólico obtido das folhas desta espécie.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES/UFRN pelo suporte financeiro durante e realização desta pesquisa, e ao NUPRAR/UFRN pelas análises no ICP-OES.

Referências

Almeida Júnior, A. B. 2010. *Adubação orgânica em cana-de-açúcar: efeitos no solo e na planta*. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Amaral, F. M. M.; Coutinho, D. F.; Ribeiro, M. N. S.; Oliveira, M. A. 2003. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/Maranhão. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. n. 13, p. 27 - 30.

ANVISA 1976 - Secretaria de Vigilância Sanitária, Lei nº. 6.360 de 23 de setembro de 1976. Dispõe

sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências.

ANVISA 1998 - Secretaria de Vigilância Sanitária, recommended dietary allowances (RDA), ingestão diária recomendada (IDR) de vitaminas, minerais e proteínas. Portaria nº 33, de 13 de janeiro de 1998. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Seção I-E, p. 5, jan, 1998.

Barni, S. T.; Cechinel Filho, V.; Couto, A. G. 2009. Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria-prima farmacêutica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 4, p. 865 - 870.

Bianco, E. M. 2003. *Química e potencial antioxidante de folhas e caules de Bauhinia microstachya (Raddi) Macbr., Caesalpinaceae*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná, Brasil.

Biondi, C. M.; Nascimento, C. W. A.; Fabricio Neta, A. B.; Ribeiro, M. R. 2011. Teores de Fe, Mn, Zn, Cu, Ni e Co em solos de referência de Pernambuco. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 35, p. 1057 - 1066.

Biswas, K.; Chattopadhyay, I.; Baerjee, R. K.; Bandyopadhyay, U. 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*. n. 11, v. 82, p. 1336 - 1345.

Boeke, S. J.; Boersma, M. G.; Alink, G. M.; Van Loon, J. J. A.; Van Huis, A.; Dicke, M.; Rietjens, M. C. M. 2004. Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 94, p. 25 - 41.

Bonato, C. M.; Rubin Filho, C. J.; Melges, E.; Santos, V. 1998. *Nutrição mineral de plantas*. UEM - Universidade Estadual de Maringá, p. 137.

Braga, T. V.; Oliveira, T. T.; Pinto, J. T.; Dores, R. G. R.; Nagem, T. J. 2007. Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. *verticillata* e avaliação do processo de secagem em estufa com ventilação forçada. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. n. 3, v. 28, p. 287 - 290.

Campos, J. S.; Frasson, A. P. Z. 2011. Avaliação da atividade antioxidante do extrato aquoso de

Lafoensia pacari A. ST-HIL. em emulsão não-iônica. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 32, n. 3, p. 363 - 368.

Coats, J. R. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annual Review of Entomology*. v. 39, p. 489 - 515.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, DF. n. 249, de 30/12/2009, p. 81 - 84.

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. *Revista Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR*. n.2, v. 15, p. 121 - 127.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 2008. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. Zenebon, O; Pascuet, N. S.; Tiglea, P. (coord.) São Paulo: IMESP 2008, 4 ed., (1 ed., digital), p. 98 - 99.

Kashif, M.; Ullah, S. 2013. Chemical composition and minerals analysis of *Hippophae rhamnoides*, *Azadirachta indica*, *Punica granatu* and *Ocimum sanctum* leaves. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, v. 8, n. 1, p. 67 - 73.

Kraus, W.; Bokel, M.; Klenk, A.; Pöhl, H. 1987. Structure determination by NMR of azadirachtin and related compounds from *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae). *Tetrahedron Letters*, v. 43, n. 12, p. 2817 - 2830.

Lopes, G. O.; Paiva, J.; Rodrigues, T. 2009. Caracterização das propriedades antioxidantes de extratos glicólicos de *Azadirachta Indica* em mitocôndrias isoladas. XII Congresso de Iniciação Científica, Mogi das Cruzes, Brasil. Disponível em: <http://www.umc.br/_img/_diversos/pesquisa/pibic_pvic/XII_congresso/projetos/Guilherme_Oliveira.pdf>. Acesso em: 12 Jul. 2014.

Luo, X.-D.; Wu, S.-H.; Ma, Y.-B.; Wu, U, D.-G. 2000. A new triterpenoid from *Azadirachta indica*. *Fitoterapia*, v. 71, p. 668 - 672.

Maciel, M. A. M.; Pinto, A. C.; Veiga Jr., V. F.; Echevarria, A.; Grynberg, N. F. 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, v. 25, p. 429 - 438.

Maiga, A.; Diallo, D.; Bye, R.; Paulsen, B. S. J. 2005. Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n. 6, v. 53, p. 2316 - 2321.

Malavolta, E.; Leão, H. C.; Oliveira, S. C.; Lavres Jr., J.; Moraes, M. F.; Cabral, C. P.; Malavolta, M. 2006. Repartição de nutrientes nas flores, folhas e ramos da laranjeira cultivar Natal. *Revista Brasileira de Fruticultura*, n. 3, v. 28, p. 506 - 511.

Morais, S. M.; Cavalcanti, E. S. B.; Costa, S. M. O.; Aguiar, L. A. 2009. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, p. 315 - 320.

Mossini, S. A. G.; Kimmelmeier, C. 2005. A árvore nim (*Azadirachta indica* A. Juss.): múltiplos usos. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, n.1, v. 24, p. 139 - 148.

Mourão, S. A.; Zanuncio, J. C.; Pallini Filho, A.; Guedes, R. N. C.; Camargos, A. B. 2004. Toxicidade de extratos de nim (*Azadirachta indica*) ao ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, n. 8, p. 829 - 830.

Negri, M. L. S.; Possamai, J. C. Nakashima, T. 2009. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n.2, p. 553 - 556.

Neves, E. J. M.; Reissmann, C. B.; Dedecek, R. A.; Carpanezi, A. A. 2013. Caracterização nutricional do nim em plantios no Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.17, n.1, p. 26 - 32.

Nunes, P. M. P. 2011. *Estudo fitoquímico e atividades biológicas do óleo da semente de Citrus sinensis (L.) Osbecke sua aplicação na área cosmética*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná, Brasil.

Oliveira, M. C. S.; Giglioti, R.; Forim, M. R.; Calura, F. H.; Oliveira, H. N.; Chagas, A. C. S.; Brito, L. G. 2009. Uso de extratos de nim (*Azadirachta indica*) no controle do carrapato *Rhipicephalus*

(*Boophilus microplus*). Comunicado Técnico - EMBRAPA. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAF-RO-2010/14398/1/PROCIComTec90MCSO2009.00316.pdf>>. Acesso em: 18 Set. 2014.

Pessuto, M. B. 2006. *Análise fitoquímica de extratos de folhas de Maytenus ilicifolia Mart. Ex Reiss. e avaliação do potencial antioxidante*. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, 104 f.

Prieto, P.; Pineda, M.; Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, v. 269, p. 337 - 341

Rocha, F. D.; Pereira, R. C.; Kaplan, M. A. C.; Teixeira, V. L. 2007. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, n.17, p. 631 - 639.

Sahito, S. R.; Memon, M. A.; Kazi, T. G.; Jakhrani M. A.; Haque, Q. U.; Shar, G. Q. 2003. Evolution of mineral contents in medicinal plant *Azadirachta indica (neem)*. *Journal of The Chemical Society Of Pakistan*, v. 25, n. 2, p. 139 - 143.

Santiago, D. M.; Teixeira, G. C. B.; Souza, R. R.; Goulart, A. T. 2011. Teores de cádmio, chumbo e zinco em plantas medicinais cultivadas em solos contaminados. *PERQUIRERE - Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão*, n. 8, v. 1, p. 195 - 202.

Simões, M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentez, L. A.; Petrovick, P. R. 2010. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª ed.

Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC.

Soon, L. G.; Bottrell, D. G. 1994. *Neem pesticides in rice: potencial and limitations*. IRRI - International Rice Research Institute. Disponível em: <http://books.irri.org/9712200477_content.pdf>. Acesso em: 15 Jun. 2014.

Teixeira, J. G. 2012. *Efeito preservativo de produtos químicos naturais e do tratamento térmico na bio-deterioração da madeira de Pinus caribaea Morelet*. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil.

USEPA. Method 6010C. 2007. Inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry. rev. 03, p. 72. Disponível em: <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/6010c.pdf>>. Acesso em: 23 Set. 2014.

Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M.T.D.; Mazur, M.; Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, n. 39, p. 44 - 84.

Valmorbida, J.; Boaro, C. S. F.; Scavroni, J.; David, E. F. S. 2007. Crescimento de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes doses de potássio. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, n. 4, v. 9, p. 27 - 31.

Veiga Jr., V. F.; Pinto, A. C.; Maciel, M. A. M. 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, v. 28, p. 519 - 528.

Viegas Jr., C.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J. 2006. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, n. 29, p. 326 - 337.