

Maria das Graças Bichara Zoghbi (*)

Maria de Jesus Coutinho Varejão (*)

Maria Nilce de Sousa Ribeiro (*)

RESUMO

Neste trabalho relata-se o isolamento de cristais de tiocianato e de nitrato e nitrito de sódio e potássio no tubérculo e caule de *Humirianthera ampla*. Determinou-se ainda o teor de nitrato e nitrito nas folhas de *H. ampla* e *H. rupestris*, nas idades jovem e adulta. Os teores máximos de $N-NO_3^-$ observados para *H. ampla* e *H. rupestris* foram, respectivamente, 8.828 mg% e 6.422 mg%.

INTRODUÇÃO

As espécies vegetais *H. ampla* e *H. rupestris* popularmente conhecidas como "batata mairã", podem alcançar até 100 kg de peso, os quais são utilizados na alimentação como fonte de amido (Rizzini & Mors, 1976). No entanto, as folhas frescas de *H. ampla* apresentam elevada toxicidade aos bovinos (Tokarnia et al., 1979), desconhecendo-se até o momento o princípio tóxico das mesmas e se sob condições naturais ocorre intoxicação por ingestão da planta.

O estudo fitoquímico dos tubérculos de *H. ampla* e *H. rupestris* levou ao isolamento de seis substâncias terpenoidais, dentre elas o humiriantenolídeo C (Zoghbi, 1981 e 1983), cuja DL_{50} indicou tratar-se de substância de alta toxicidade (Ubatuba, não publicado).

Um estudo ecofitofarmacológico realizado com *H. ampla* e *H. rupestris* levou ao isolamento, do tubérculo e caule de *H. ampla*, de cristais de tiocianato e de nitrato e nitrito de sódio e potássio, além das observações quanto à palatabilidade das folhas dessas espécies aos cupins do gênero *Syntermes*. Foram estudados também os efeitos farmacológicos dos extratos orgânicos das folhas e tubérculos das duas espécies (Relatório FINEP, 1977).

Os nitratos, constituintes naturais dos vegetais, são uma fonte essencial de nitrogênio (Lara et al., 1984), necessário ao seu desenvolvimento, não causando efeitos nocivos

(*) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus - AM.

se presentes em baixas concentrações.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 26 (vinte e seis) espécimes de *H. ampla* e 9 (nove) de *H. rupestris*. As folhas de *H. ampla* foram coletadas no município de Itacoatiara (AM) em áreas de pastagens e a de *H. rupestris* nos km 190 e 243 da rodovia AM-10 (Manaus-Itacoatiara) e campus do INPA (Manaus-AM). Os espécimes foram identificados comparativamente, com as exsiccatas existentes no herbário do INPA sob nºs 48.615 e 46.811, respectivamente, para *H. ampla* e *H. rupestris*.

Isolamento e identificação dos cristais de tiocianato de Na e K: O tubérculo (3.100,0 g) de *H. ampla* foi moído, seco à temperatura ambiente e extraído com etanol à frio fornecendo 85,8 g de extrato. O extrato etanólico (20 g) foi submetido à separação cromatográfica, em coluna de sílica-gel (200 g) utilizando-se como eluente clorofórmio, um gradiente de clorofórmio-metanol e metanol, coletando-se alíquotas de 250 ml. Da fração 70-72 eluída com metanol isolou-se uma substância cristalina que foi submetida à marcha química para caracterização de anions (Vogel, 1960) e análise espectrográfica em espectrográfo Jarrel-Ash 1,5 meter Wadsworth, para análise semiquantitativa dos cations.

Isolamento e identificação dos cristais de nitrato e nitrito de Na e K: O caule (2.100 g) de *H. ampla* após secagem à temperatura ambiente, foi moído e extraído com acetona à frio fornecendo 11,6 g de extrato. O resíduo foi submetido à extração com etanol fornecendo 14,9 g de extrato parcialmente cristalizado. Lavagens sucessivas com solventes orgânicos de diferentes polaridades forneceu cristais de nitrato + nitrito de Na e K que foram identificados de maneira análoga aos do tiocianato.

Dosagem do teor de $N-NO_3^-$ e $N-NO_2^-$: As folhas frescas foram mantidas em sacos plásticos vedados, sob refrigeração, por um período máximo de 72 horas. Os teores de nitrato e nitrito foram determinados por espectrofotometria, através da reação de Gries modificada, usando como padrões nitrato e nitrito de Na e K. Após extração aquosa e eliminação dos pigmentos o nitrato foi reduzido a nitrito através de uma coluna de vidro com limalhas de cádmio coperizado (Henriksen & Olsen, 1970). A dosagem dos teores de $N-NO_3^-$ e $N-NO_2^-$ foi determinada em espectrofotômetro Varian 634 (Giné, 1980). A análise estatística dos dados foi obtida através do teste t-Student, com um grau de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de nitrato e nitrito nas folhas de *H. ampla* e *H. rupestris*, nas idades jovem e adulta, estão configuradas na Tabela 1 e na Figura 1.

Tabela 1. Teores de NO_3^- e NO_2^- em amostras de folhas de *H. ampla* e *H. rupestris* (mg%).

Teores mg %	H. ampla		H. rupestris		
	idade	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-
Jovem		1461,0	0	6421,8	17,0
Jovem		3062,3	3,3	4156,3	32,0
Jovem		498,3	19,8	1218,8	17,0
Jovem		1687,8	12,3		
Adulta		994,3	10,8	414,0	15,5
Adulta		1203,0	13,5	570,3	10,8
Adulta		312,5	17,0	2156,3	20,8
Adulta		1000,0	9,5	2156,3	13,3
Adulta		3970,5	30,8	570,3	32,0
Adulta		2539,0	12,5	359,3	13,3
Adulta		1429,8	18,0		
Adulta		1273,5	27,0		
Adulta		328,0	9,8		
Adulta		1625,0	9,3		
Adulta		4484,3	38,0		
Adulta		4906,3	34,5		
Adulta		1039,0	14,3		
Adulta		1867,0	17,8		
Adulta		851,5	15,5		
Adulta		453,0	21,0		
Adulta		1062,5	10,5		
Adulta		1586,0	49,5		
Adulta		687,5	27,8		
Adulta		1046,8	31,0		
Adulta		1882,8	18,8		
Adulta		8828,0	15,0		
\bar{x}		1926,1	18,7	2002,6	19,1

Pela Tabela 1 observa-se que há uma grande flutuação nos teores de N-NO_3^- e N-NO_2^- entre os espécimens das duas plantas analisadas, independentemente da idade fisiológica das mesmas. A análise estatística desses dados não detectou diferença significativa nos teores médios de N-NO_3^- e N-NO_2^- nas folhas das duas espécies analisadas.

Elevadas concentrações de nitratos nos vegetais podem provocar graves distúrbios fisiológicos nos animais, por ingestão dos mesmos, devido a redução de nitrato a nitrito, por metahemoglobinemia (Souza, 1970). A ocorrência natural de nitrato de sódio já havia sido observada em *Petiveria alliacea* (Souza et al., 1986).

Apesar de não ter sido observada formação de metahemoglobinemia nos animais vitimados pela ingestão de folhas de *H. ampla*, é provável que a morte do gado se deva a efeitos sinérgicos promovidos por nitrato e tiocianato de Na e K e dos metabólicos secundários que ocorrem nessas espécies. A metahemoglobinemia pode não ser observada nos casos agudos, especialmente se a análise for realizada pós-morte (El Manual Merck de Veterinária, 1970). A perda da toxicidade da planta após dessecação e os sintomas gastrointestinais apresentados pelos animais seriam justificáveis (Tokarnia, 1979) pela presença de nitrato e tiocianato em *H. ampla*.

Estudos farmacológicos iniciados por Pinheiro em 1987 em camundongos e pintos com extratos aquosos de folhas e tubérculos de "batata mairã" levaram os animais à morte com sintomas característicos aos observados em animais intoxicados por nitritos (Relatório FINEP, 1987).

Do tubérculo de um espécimen de *H. ampla* foi isolado 1,00 g de tiocianato de sódio e potássio, e do caule de outro, 2,75 g de nitrato e nitrito de sódio e potássio. Os tiocianatos podem ocorrer nos vegetais por degradação dos glucosinolatos (Benn, 1977). A ocorrência de tiocianatos não provenientes dos glucosinolatos foi verificada nos tubérculos de *Pentadiplandra brazzeana* Baill (Pentadiplandraceae) (Migirab, 1977). De maneira similar aos nitratos, os tiocianatos são substâncias tóxicas, provocando hipertrofia da glândula tireóide em mamíferos (Harborne, 1977) se forem orgânicos. Erupções na pele e psicose são provocados por tiocianato de potássio (The Merck Index, 1976).

Neste trabalho, foi observado que em áreas de pastagens (em Itacoatiara) é grande a ocorrência de *H. ampla*. Não havendo, no entanto, dados sobre a mortalidade do gado, devido ao cuidado dos criadores de retirada constante das suas partes aéreas, permanecendo, no entanto, os tubérculos soterrados, os quais, na idade adulta afloram à superfície. Em época chuvosa, segundo informação popular, o pisotear dos animais leva a formação de poças d'água sobre os mesmos, que se deglutidas apresentam o mesmo efeito tóxico das folhas.

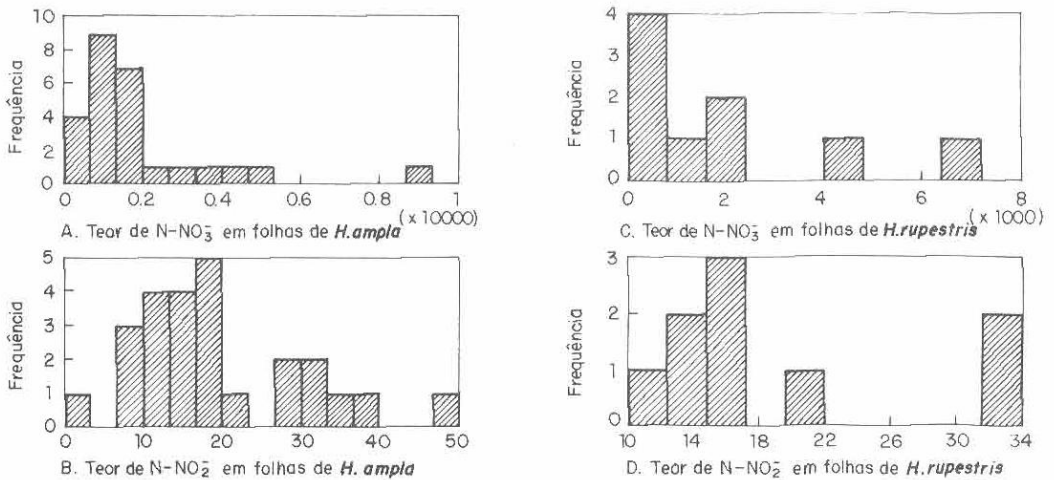


Fig. 1. Histograma de frequência de *H. ampla* e *H. rupestris* quanto aos seus teores de N-NO₃ e N-NO₂ em amostras de folhas.

CONCLUSÃO

Os teores médios de $N-NO_3^-$ nas folhas de *H. ampla* e *H. rupestris* são considerados elevados se comparados com o gênero *Brachiaria* onde os teores de $N-NO_3^-$ variaram de 0,550-0,900 mg% (equivalente a mg% de KNO_3) (Andrade et al., 1971). Os teores máximos de $N-NO_3^-$ observados para *H. ampla* e *H. rupestris* correspondem, respectivamente a 8.828mg% e 6.422mg%.

O teor máximo de $N-NO_3^-$ encontrado em *H. ampla* (8.828 mg) é ligeiramente superior aos dos registrados na literatura para a intoxicação de bovinos, onde a dose letal é de 550 mg/kg (Bradley et al., 1940).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. William Rodrigues pela identificação botânica das espécies estudadas, e a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo auxílio financeiro concedido.

SUMMARY

In this paper we relate the isolation of crystals of sodium and potassium thiocyanates, nitrates and nitrites from the tubers and stem of *Humirianthera ampla*. We have also determined the amounts of nitrate and nitrite in young and matures leaves of *H. ampla* and *H. rupestris*. The maximum amounts of $N-NO_3^-$ observed in *H. ampla* and *H. rupestris* were 8,828 mg% and 6,422 mg%, respectively.

Referências bibliográficas

- Andrade, S. O.; Retz, L.; Marmo, O. - 1971. Estudos sobre *Brachiaria* sp. (Taner grass) III - Ocorrências de intoxicações de bovinos durante um ano (1970-1971) e níveis de nitrato em amostras da gramínea. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 38(4): 239-252.
- Benn, M. Apud Olsen, O.; Sørensen, H. - 1979. Isolation of glucosinolates and the identification of $o-(\alpha-L\text{-rhamnopyranosyloxy})\text{benzylglucosinolate}$ from *Reseda odorata*. *Phytochemistry*, 18:1547-1552.
- Bradley, W. B.; Epton, H. F.; Beath, O. A. Apud Souza, J. A.; Oliveira, M. A.; Mueller, S. B. K. - 1970. Variações da capacidade de transporte de oxigênio do sangue de cães intoxicados experimentalmente com nitrato de sódio. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 37 (4):269-274.
- EM MANUAL MERCK DE VETERINÁRIA (Un manual de diagnóstico y terapeutica para el veterinario) - 1970. Merck & Co, Inc. p. 812-816.
- Giné, M. F.; Bergamin, F. H.; Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F. - 1980. Simultaneous determination of nitrate and nitrites by flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*, 114: 191-197.

- Harborne, J. H. - 1977. *Introduction to Ecological Biochemistry*. Academic Press, New York. p. 63.
- Henriksen, A. & Selmer-Olsen, A. R. - 1970. *Automatic methods for determination nitrate and nitrite in water and soil extracts*. *Analyst*, 95:514-518.
- Lara, W. H.; Takahashi, M. Y.; Yabiku, H. Y. - 1984. *Níveis de nitratos em alimentos infantis*. *Síntese*, 6:15-18.
- Migirab, S. El; Berger, Y.; Jadot, J. - 1977. *Isothiocyanates, thiourees et thiocarbamates isolés de Pentadiplandra brazzeana*. *Phytochemistry*, 16:1719-1721.
- RELATÓRIO FINEP - 1987. *Química, farmacologia e ecologia do gênero Humirianthera*. INPA. 112 p.
- Rizzini, C. T. & Mors, W. B. - 1976. *Botânica econômica brasileira*. Editora da Universidade de São Paulo. p. 181.
- Sousa, J. R.; Demuner, A. J.; Pedersoli, J. L.; Afonso, A. M. M. - 1986. *Constituintes químicos da raiz e caule de Petiveria alliacea*. *Ciência e Cultura*, (Supl.) 38 (7): 600.
- Souza, J. A.; Oliveira, M. A.; Mueller, S. B. K. - 1970. *Variações de transporte de oxigênio do sangue de cães intoxicados experimentalmente com nitrato de sódio*. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 37(4):269-274.
- THE MERCK INDEX (An encyclopedia of chemicals and drugs) - 1976. Merck & Co, Inc. p. 7483.
- Tokarnia, C. H.; Döbereiner, J.; Silva, M. F. - 1979. *Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros*. INPA, Manaus. 95 p.
- Vogel, A. - 1960. *Química analítica cuantitativa*. 2ª ed., Editorial Kapelusz, Buenos Aires. p. 288.
- Zoghbi, M. das G. B.; Roque, N. F.; Gottlieb, H. E. - 1981. *Humirianthenolides, new degraded diterpenoids from Humirianthera rupestris*. *Phytochemistry*, 20(7):1669-1673.
- Zoghbi, M. das G. B.; Roque, N. F.; Cabral, J. A. S. - 1983. *Estudo químico de Humirianthera ampla (Miers) Baehni (Icacinaceae)*. *Acta Amazonica*, 13(1):215-216.

(Aceito para publicação em 10.03.1988)