



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**DETERMINAÇÃO DE COMPONENTES INORGÂNICOS EM
PLANTAS MEDICINAIS, COMERCIALIZADAS EM FORMAS DE
PÓ(CÁPSULAS) E “IN NATURA”, UTILIZANDO A TÉCNICA
DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE
COMPRIMENTO DE ONDA (WDXRF) E POR DISPERSÃO DE
ENERGIA (EDXRF) DEFINIÇÃO DE PERFIS INORGÂNICOS
QUANTITATIVOS**

MANUEL OCTÁVIO MARQUES FERREIRA

**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Materiais.**

**Orientadora:
Profa. Dra. Ivone Mulako Sato**

**São Paulo
2004**



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DETERMINAÇÃO DE COMPONENTES INORGÂNICOS EM PLANTAS MEDICINAIS, COMERCIALIZADAS EM FORMAS DE PÓ (CÁPSULAS) E “IN NATURA”, UTILIZANDO A TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE COMPRIMENTO DE ONDA (WDXRF) E POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDXRF). DEFINIÇÃO DE PERFIS INORGÂNICOS QUANTITATIVOS

MANUEL OCTÁVIO MARQUES FERREIRA



Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais

Orientadora: Profa. Dra. Ivone Mulako Sato

São Paulo
2004

*Aos meus pais, pelo apoio,
suporte e compreensão nos momentos difíceis.*

À Mônica pela sua amizade, amor e carinho

Agradecimentos

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares e ao Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA) pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudo.

À Prof. Dra. Ivone Mulako Sato pela valiosa orientação, inabalável animo, incentivo e carinho.

À amiga Elisa Kayo Shibuya pela amizade e por ter aberto as portas do Instituto e me incentivado em meu trabalho.

À Marcia Almeida Ribeiro, pelo auxílio, amizade e confiança.

À Vera Lucia Ribeiro Salvador e Marcos Antonio Scapin pela inestimável ajuda, dentro e fora do laboratório.

À Isabel Moreño pela amizade, paciência, amizade e orientação no dia a dia do laboratório de química.

À Dra. Maria Inês Cantagalo, pela amizade, simpatia e pelo uso do laboratório.

Aos inestimáveis amigos que fiz neste instituto:
Ana Paula S. Lima, Ivan A. Almeida, Helena M. Shiromatsu e Irene Bona.

DETERMINAÇÃO DE COMPONENTES INORGÂNICOS EM PLANTAS
MEDICINAIS, COMERCIALIZADAS EM FORMAS DE PÓ (CÁPSULAS) E
"IN NATURA", UTILIZANDO A TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X
POR DISPERSÃO DE COMPRIMENTO DE ONDA (WDXRF)
E POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDXRF).

DETERMINAÇÃO DE PERFIS INORGÂNICOS QUANTITATIVOS

Manuel Octávio Marques Ferreira

RESUMO

As concentrações dos elementos Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr foram determinadas para as espécies *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão), *Malva officinalis* (Malva), *Salvia officinalis* (Sálvia), *Ginkgo folium* (Ginkgo biloba), *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro), *Paulina cupana* (Guaraná), *Valeriana officinalis* (Valeriana), *Cordia salicifolia* (Porangaba), *Calendula officinalis* (Calêndula), *Solidago microglossa* (Arnica), *Arnica montana* (Arnica) e *Schinus molle* (Aroeira). As espécies foram obtidas amostradas nas formas "in natura" (folhas, flores, caules e sementes) e em pó (cápsulas), para diferentes procedências.

A determinação dos elementos foi realizada pela a técnica de fluorescência de raios X, por dispersão de comprimento de onda (WDXRF) e por dispersão de energia (EDXRF); utilizando, respectivamente, método de Regressão Linear e método de Parâmetros Fundamentais.

A repetitividade e exatidão dos resultados foram avaliadas com o material de referência certificado NIST 1547 – "Peach Leaves", aplicando testes estatísticos de Chauvenet, Cochran, ANOVA e Z-score.

Um perfil inorgânico quantitativo foi determinado para cada espécie, a partir de amostras em forma "in natura" e cápsulas de diferentes procedências. Concentrações diferenciadas em elementos foram observadas em partes constituintes (folhas, flores, caules e sementes) das espécies *Schinus molle* (Aroeira), *Arnica montana* (Arnica), *Calendula officinalis* (Calêndula) e *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de Couro).

DETERMINATION OF THE INORGANIC COMPONENTS IN THE BRAZILIAN
MEDICINAL PLANTS FROM "IN NATURA" AND CAPSULE FORMS, USING X-
RAY FLUORESCENCE TECHNIQUES (WD AND ED SYSTEMS).
QUANTITATIVE INORGANIC PROFILE DEFINITION.

Manuel Octávio Marques Ferreira

ABSTRACT

The Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb and Sr concentrations in the *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão), *Malva officinalis* (Malva), *Salvia officinalis* (Sálvia), *Ginkgo folium* (Ginkgo biloba), *Echinodorus macrophyllus* (Chápeu de couro), *Paulina cupana* (Guaraná), *Valeriana officinalis* (Valeriana), *Cordia salicifolia* (Porangaba), *Calendula officinalis* (Calêndula), *Solidago microglossa* (Arnica), *Arnica montana* (Arnica) and *Schinus molle* (Aroeira) species were concentrations. The specimens were sampled "in natura" (leaves, flowers, barks and seeds) and capsule (powder) forms from different commercial labels.

The elemental determination was outlined by wavelength dispersive (WDXRF) and energy dispersive (EDXRF) X-ray fluorescence techniques using, respectively, linear regression and fundamental parameter methods.

The repeatability and accuracy of the methods were evaluated using the certified reference material NIST 1547 – "Peach Leaves". Statistical treatments, such as Chauvenet and Cochran, ANOVA and Z-score tests, were applied.

A quantitative inorganic profile was obtained for each specie from "in natura" and capsule forms. Different inorganic compositions were observed in the different parts (leaves, flowers, barks and seeds) of the *Schinus molle* (Aroeira), *Arnica montana* (Arnica), *Calendula officinalis* (Calêndula) and *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro) espécies.

Sumário

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Legislação.....	14
1.2 Técnica de fluorescência de raios X.....	16
1.2.1 Breve histórico.....	16
1.3 Levantamento bibliográfico.....	18
1.4 Objetivos.....	20
2 PARTE EXPERIMENTAL.....	21
2.1 Materiais e equipamentos.....	21
2.2 Amostragem de espécies.....	21
2.3 Determinação de composição inorgânica das plantas medicinais nas formas “in natura” e cápsulas Técnica analítica: WDXRF.....	23
2.3.1 Preparação das amostras.....	23
2.3.2 Parâmetros instrumentais de medida.....	24
2.3.3 Método de Regressão Linear.....	25
2.4 Determinação de composição inorgânica em partes constituintes (caule, folha, flor, semente) de plantas medicinais nas formas “in natura”. Técnica analítica: EDXRF.....	27
2.4.1 Preparação de amostras.....	27
2.4.2 Parâmetros instrumentais de medidas.....	28
2.4.3 Método de Parâmetros Fundamentais.....	29
2.5 Métodos estatísticos para validação das metodologias.....	30
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.1 Avaliação das técnicas WDXRF e EDXRF.....	33
3.1.1 Avaliação da homogeneidade dos resultados, sistema WDXRF.....	33
3.1.2 Avaliação da homogeneidade dos resultados, sistema EDXRF.....	37
3.1.3 Avaliação da exatidão, sistema WDXRF.....	42
3.1.4 Avaliação da exatidão, sistema EDXRF.....	43

3.2 Determinação de Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr em plantas medicinais “ <i>in natura</i> ” e cápsulas. Definição dos perfis inorgânicos quantitativos das espécies <i>Cordia salicifolia</i> (Porangaba), <i>Ginkgo folium</i> (Ginkgo biloba), <i>Valeriana officinalis</i> (Valeriana), <i>Echinodorus macrophyllus</i> (Chapéu de couro), <i>Paulina cupana</i> (Guaraná), <i>Solidago microglossa</i> (Arnica), <i>Stryphnodendron barbatiman</i> (Barbatimão), <i>Calendula officinalis</i> (Calêndula), <i>Malva officinalis</i> (Malva) e <i>Salvia officinalis</i> (Sálvia).....	46
3.2.1 Definição de perfil inorgânico quantitativo.....	55
3.3 Determinação de composição inorgânica em partes constituintes (caule, folha, flor e semente) das espécies <i>Calendula officinalis</i> (Calêndula), <i>Echinodorus macrophyllus</i> (Chapéu de Couro), <i>Arnica montana</i> (Arnica) e <i>Schinus molle</i> Aroeira).....	64
4 CONCLUSÕES.....	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
FIGURA 1	Esquema básico de um espectrômetro de fluorescência WDXRF	17
FIGURA 2	Esquema básico de um espectrômetro de fluorescência EDXRF	18
FIGURA 3	Dispersão dos resultados (ANOVA). Amostra certificada; NIST 1547 "Peach Leaves" - Método de regressão linear – WDXRF	37
FIGURA 4	Dispersão dos resultados (ANOVA). Amostra certificada; NIST 1547 "Peach Leaves" - Método de Parâmetros Fundamentais – EDXRF	42
FIGURA 5	Valores Z-score para Amostra certificada; NIST 1547-"Peach Leaves". Método de Regressão Linear, WDXRF	43
FIGURA 6	Valores Z-Score para Amostra certificada; NIST 1547-"Peach Leaves". Método de Parâmetros Fundamentais, EDXRF	45
FIGURA 7	Heterogeneidade da amostragem (3 procedências) da espécie <i>Malva officinalis</i> (Malva)	53
FIGURA 8	Relação da composição de K, Cl, Ca, Mg, S, Fe, P, Zn e Mn para <i>Echinodorus macrophyllus</i> (Chapéu de couro) em forma de cápsulas.	54

FIGURA 9	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Cordia Salicifolia</i> (Porangaba)	59
FIGURA 10	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Ginkgo folium</i> (Gikgo biloba)	59
FIGURA 11	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Valeriana officinalis</i> (Valeriana)	60
FIGURA 12	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Echinodorus macrophyllus</i> (Chapéu de couro)	60
FIGURA 13	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Paulina cupana</i> (Guaraná)	61
FIGURA 14	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Solidago microglossa</i> (Arnica)	61
FIGURA 15	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Stryphnodendron barbatiman</i> (Barbatimão)	62
FIGURA 16	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Calendula officinalis</i> (Calêndula)	62
FIGURA 17	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Malva officinalis</i> (Malva)	63
FIGURA 18	Perfil inorgânico quantitativo da espécie <i>Salvia officinalis</i> (Salvia)	63
FIGURA 19	Composição química de folha e pétala da espécie <i>Calendula officinails</i> (Calêndula).	66

FIGURA 20	Composição química de caule, folha e semente da espécie <i>Echinodorus macrophyllus</i> (Chapéu de couro).	67
FIGURA 21	Composição química de caule, folha e pétala da espécie <i>Arnica montana</i> (Arnica)	68
FIGURA 22	Composição química de caule, folha e semente da espécie <i>Schinus molle</i> (Aroeira).	69

ÍNDICE DE TABELAS

		Página
TABELA 1	Plantas medicinais amostradas	22
TABELA 2	Plantas medicinais analisadas pela técnica de WDXRF	24
TABELA 3	Parâmetros instrumentais de medida estabelecidos no espectrômetro WDXRF	25
TABELA 4	Constantes de curvas de calibração, e sensibilidade, sistema WDXRF	27
TABELA 5	Plantas medicinais analisadas por EDXRF	28
TABELA 6	Parâmetros instrumentais de medida estabelecidos no espectrômetro EDXRF	28
TABELA 7	Constantes das curvas de sensibilidade, sistema EDXRF	29
TABELA 8	Análise de variâncias – ANOVA	31
TABELA 9	Valores certificados e determinados do CRM NIST 1547- “Peach Leaves”. Método de Regressão Linear, WDXRF	42
TABELA 10	Valores certificados e determinados do CRM NIST 1547- “Peach Leaves”. Método de Parâmetros Fundamentais, EDXRF	45

TABELA 11	Comparação entre as técnicas WDXRF e EDXRF	46
TABELA 12	Composição química da espécie <i>Cordia salicifolia</i> (Porangaba)	48
TABELA 13	Composição química da espécie <i>Ginkgo folium</i> (Ginkgo biloba)	48
TABELA 14	Composição química da espécie <i>Valeriana officinalis</i> (Valeriana)	49
TABELA 15	Composição química da espécie <i>Echinodorus macrophyllus</i> (Chapéu de couro)	49
TABELA 16	Composição química das espécies <i>Paulina cupana</i> (Guaraná) e <i>Solidago microglossa</i> (Arnica)	50
TABELA 17	Composição química das espécies <i>Stryphnodendron barbatiman</i> (Barbatimão) e <i>Calendula officinalis</i> (Calêndula)	50
TABELA 18	Composição química das espécies <i>Malva officinalis</i> (Malva) e <i>Salvia officinalis</i> (Salvia)	51
TABELA 19	Variação elementar entre diferentes formas amostradas e procedências da espécie: <i>Ginkgo folium</i> (Ginkgo biloba)	52
TABELA 20	Variação elementar entre diferentes procedências da espécie: <i>Paulina cupana</i> (Guaraná). Forma: cápsula	53

TABELA 21	Varição elementar entre diferentes procedências da espécie <i>Echinodorus macrophyllus</i> (Chapéu de couro)	55
TABELA 22	Composição de elementos inorgânicos em plantas medicinais (I a V)	57
TABELA 23	Composição de elementos inorgânicos em plantas medicinais (VI a X)	57
TABELA 24	Composição inorgânica das partes constituintes das espécies <i>Calendula officinalis</i> (Calêndula) e <i>Echinodorus macrophyllus</i> (Chapéu de couro)	65
TABELA 25	Composição inorgânica das partes constituintes das espécies <i>Arnica montana</i> (Arnica) e <i>Schinus molle</i> (Aroeira)	65

1 – INTRODUÇÃO

O Brasil oferece uma incomparável oportunidade para as pesquisas em plantas medicinais. Possui uma vasta área territorial e vários biomas como Cerrado, Pantanal, Caatinga, Mata Atlântica e Amazônia. Esta grande diversidade de solos e climas favorece, de modo excepcional, o surgimento de grande variedade de espécies vegetais. Estima-se que, no Brasil, existam cerca de 60000 espécies reconhecidas entre as angiospermas tropicais^{1,2}.

A disponibilidade de uma grande biodiversidade, um aumento contínuo de consumo pela população, um crescente número de pesquisadores na área, o crescimento da indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos medicamentos e os benefícios sociais advindos do aumento do comércio são fatores indicativos de incentivo à pesquisa na área de plantas medicinais³.

A Organização Mundial da Saúde estima que 80% da população mundial dependem da medicina tradicional, e quase 85% da medicina tradicional envolve o uso de plantas medicinais. Ainda, 65 a 80% da população mundial de países em desenvolvimento dependem essencialmente de plantas medicinais como forma primária de cuidar da saúde⁴. Os países industrializados fazem uso, também, em grande escala, de plantas medicinais. Por exemplo, a Alemanha detém sozinha 50% do mercado europeu de fitoterápicos (US\$3,5 bilhões/ano)⁵.

No Brasil, o uso de plantas medicinais é uma prática comum, cujo conhecimento é transmitido de geração em geração, e na sua grande maioria, a exploração é realizada por meio de extrativismo. Devido a grande biodiversidade, o Brasil revela-se como importante provedor deste valioso recurso. Porém, a demanda existente preocupa na medida em que as espécies nativas são bastante coletadas, utilizadas e comercializadas de forma não sustentável. Este ciclo indica a existência de uma extensa rede comercial de plantas medicinais que abastece feiras e ervanários⁶.

A grande maioria das plantas utilizadas pela população brasileira não foram estudadas cientificamente, e seus princípios ativos ainda não foram identificados para uso como medicamentos⁷. Ainda, a sua utilização mostra-se bastante dispersa em todo o território nacional, com infinidade de usuários e indicações.

A identificação e comprovação terapêutica das espécies são de fundamental importância para estabelecer normas compatíveis entre a utilização e a conservação destes recursos, considerando ainda a importância ambiental, econômica e de saúde pública⁸.

Além disso, a ingestão de plantas medicinais, sem a comprovação científica de seus princípios ativos, pode provocar nos usuários processos de intoxicação ou até mesmo tornar o procedimento completamente inócuo.

O conhecimento do teor dos elementos químicos nas plantas medicinais é importante para avaliação de sua qualidade, principalmente em relação à contaminantes metálicos⁹. Ainda, os elementos químicos exercem uma grande variedade de funções bioquímicas em todos os organismos vivos.

De todos os elementos químicos da natureza, admitem-se vinte e seis deles como sendo essenciais à vida animal. Onze deles denominados elementos essenciais maiores são C, H, O, N, S, Ca, P, K, Na, Cl e Mg. Os quinze elementos aceitos como micro nutrientes são Fe, I, Cu, Zn, Mn, Co, Ni, Mo, B, Se, Cr, F, Sn, Si e V. Ocasionalmente, mais de vinte elementos são encontrados em tecidos vivos, em concentrações baixas, mas suas funções essenciais no organismo humano ainda não são comprovadas¹⁰.

Os elementos traço são classificados em grupos. Conforme Sanders¹¹, "em elementos necessários ao corpo humano com quantidades bem definidas", que são os elementos Fe, I, Se e Zn, e os "necessários, porém sem a definição das quantidades", os elementos como Mg, Cu, Cr, Mo, Co e Ni. Estes elementos são relacionados à saúde humana e às doenças, uma vez que sua deficiência ou excesso podem conduzir mudanças fisiológicas. No organismo humano, todos estes elementos são supridos basicamente pela alimentação.

Os elementos tóxicos ao corpo humano, como Hg, Cd e Pb, estão presentes nas plantas. O Pb, em sua forma orgânica (tetraetil, trietil e dietil), é extremamente móvel no solo, sendo absorvidos pelas plantas na forma de Pb^{2+} . O Cd pode ser absorvido pelas raízes e assim como o Hg (na forma metilada CH_3Hg^+), pode-se deslocar para as folhas e frutos¹².

Muitas técnicas analíticas têm sido empregadas para a determinação da concentração de elementos inorgânicos em plantas, como a de espectrometria de absorção atômica^{13, 14, 15}, a análise por ativação de nêutrons^{16, 17, 18}, a polarografia^{19, 20}, a espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma^{21, 22, 23} e fluorescência de raios X^{24, 25, 26}.

A técnica de fluorescência de raios X é uma técnica consolidada na análise de materiais na área de geologia, mineração e metalurgia^{27,28,29}. A partir do final da década de 70, esta técnica tem sido empregada na área ambiental, na análise de solos, sedimentos, particulados e água. Mais recentemente tem sido utilizada nas áreas biológicas, para a determinação de elementos constituintes e traço em amostras de fluidos orgânicos, alimentos e plantas. Trabalhos iniciais de determinação de alguns elementos químicos em plantas utilizando a técnica de fluorescência de raios X foram publicadas por Hutton e Norrish (1977)³⁰.

A espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WDXRF) tem sido utilizado na determinação de elementos (Al, As, Ca, Cu, Fe, L, Mn, Ni, P, Rb, Zn e outros) em amostras biológicas como alimentos³¹ e plantas medicinais^{32,33}. A técnica por dispersão de energia (EDXRF) também tem sido utilizada na determinação de elementos essenciais e traço em plantas medicinais^{34,35}.

1.1 – Legislação

O IBAMA é o órgão responsável para o controle das atividades de comércio de plantas medicinais e normas relacionadas à pesquisa como: acesso a recursos genéticos, leis de crimes ambientais, exploração, produção, transporte e comércio.

A legislação sanitária fica a cargo do Ministério da Saúde e sua fiscalização a cargo da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

A publicação da primeira edição da Farmacopéia Brasileira em 1929 foi o primeiro ato normativo e o mais expressivo e importante em relação às plantas medicinais no Brasil³⁶. A obra elaborada por Rodolfo Albino, durante doze anos, contempla 280 espécies botânicas brasileiras e estrangeiras, contendo ainda referências sobre controle da qualidade e preparação de medicamentos. Na segunda edição da Farmacopéia houve a exclusão de 200 espécies, e a justificativa baseou-se na falta de comprovação de ação terapêutica destas.

O decreto nº 19.606 de 1931 inicia, formalmente, as atividades de vigilância sanitária na área de fitoterápicos, prevendo responsabilidades pela fiscalização e exercício da atividade farmacêutica. A Portaria nº. 22, de 30 de outubro de 1967, da Legislação Sanitária para Fitoterápicos, estabeleceu normas para o emprego e preparação de plantas medicinais. Em 17 de dezembro de 1973, a Lei 5.991 dispõe sobre o controle de drogas e determina o comércio de

plantas medicinais somente em farmácias e ervanárias; porém excluí a exigência de um farmacêutico responsável nas ervanárias. Em 1988, a Comissão Interministerial de Planejamento e Coordenação (CIPLAN), por meio da Resolução 08, lançou o programa “Fitoterapia nos Serviços de Saúde”, aonde estabelece normas para a prática do uso de plantas medicinais pelos médicos em postos de atendimento e hospitais.

A partir da década de 90, diretrizes mais específicas e detalhadas foram elaboradas, demonstrando uma evolução no setor. Por exemplo, a Portaria da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) nº. 19, de 30 de janeiro de 1992, proíbe o uso, via oral, da espécie Confrei (*Symphytum officinale*), identificado como hepatotóxico.

Em 1993, mediante a publicação da Portaria nº 546, foi criado o “Grupo Consultor Técnico Científico em Produtos Naturais do Ministério da Saúde (GCTC-PN)”. Este grupo foi responsável pela normatização da produção, armazenagem e utilização dos produtos naturais, bem como divulgar informações sobre terapias naturais junto aos Serviços de Sistema Único de Saúde (SUS)³⁷.

Em 31 de janeiro de 1995 foi publicada a Portaria nº. 6, da Secretaria de Vigilância Sanitária – Ministério da Saúde, exigindo e concedendo registro dos produtos fitoterápicos. A principal exigência para a concessão deste registro baseou-se na documentação de estudos científicos comprobatórios sobre a eficácia e segurança dos produtos fitoterápicos, de acordo com a Resolução n. 1/98 do Conselho Nacional de Saúde. Ainda, foi exigida a revalidação do registro de produtos fitoterápicos já comercializados, dentro de um prazo de 5 a 10 anos.

Dentro destas exigências, a responsabilidade de realizar a vigilância sanitária dos produtos e derivados das plantas medicinais passou para as Secretarias de Saúde Estaduais e Municipais.

Com o aumento de consumo destes produtos, em agosto de 1998, foi criada a (CONAFIT) Subcomissão Nacional de Assessoramento em Fitoterápicos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que nomeou pesquisadores e profissionais especializados para avaliar a segurança e eficácia do uso de plantas medicinais. Esta subcomissão elaborou a Resolução R: D: C nº. 17, em fevereiro de 2000. Esta resolução é bem semelhante à Portaria nº. 6, mas elabora as definições dos fitoterápicos e procedimentos para registro de forma mais clara e adequada. Esta Portaria relaciona ainda 13 espécies cujos

efeitos terapêuticos foram cientificamente comprovados, porém nenhuma destas espécies é originária do Brasil.

Estudos científicos têm identificado a importância da relação entre os componentes inorgânicos e compostos fármacos-ativos. Mas, não existe nenhuma normativa em relação à composição inorgânica das plantas medicinais; as existentes referem-se à composição e identificação de compostos fármacos-ativos.

Atualmente a maioria dos produtores de plantas medicinais, não apresenta capacidade para obedecer as normas da resolução vigente³⁸, por não apresentar modificações ou melhorias necessárias no modelo de produção.

Atualmente, a ANVISA não efetua novos registros de plantas “in natura” ou em pó para fins terapêuticos. Cabe à fiscalização sanitária o recolhimento destes produtos em feiras ou mercados, caso estes sejam comercializados com indicações terapêuticas. Porém, esta fiscalização é praticamente inexistente e a qualidade destes produtos no Brasil é reconhecidamente de má qualidade³⁹.

A Organização Mundial de Saúde⁴⁰ (OMS), preocupada com o aumento do consumo de fitoterápicos e terapias alternativas, tem aconselhado o monitoramento e a regulamentação destas atividades, principalmente, para os países em desenvolvimento, bem como tem publicado guias a fim de definir critérios básicos para a avaliação da qualidade, segurança e eficiência de plantas medicinais.

1.2 - Técnica de fluorescência de raios X

1.2.1 - Breve histórico

Em 1895, Wilhelm Röntgen descobriu os raios X a partir de descargas elétricas em uma ampola de Crookes, verificando que, na região do vidro onde incidiam os raios catódicos, emanava certa radiação que provocava luminosidade em substâncias fluorescentes. Devido a suas características e origem desconhecidas, chamou-a de raios X.

Em 1912, Henry Mosely estabeleceu uma relação entre o comprimento de onda de raios X característicos e o número atômico do elemento excitado, podendo ser considerado como o passo inicial para a identificação dos elementos químicos, utilizando o fenômeno de fluorescência de raios X.

O primeiro espectrômetro comercial de raios X por dispersão do comprimento de onda (WDXRF) foi construído nos anos 50, e operava a atmosfera ambiente e detectava apenas elementos com números atômicos maiores que 22 (Ti). No começo dos anos 60, diferentes cristais analisadores foram associados na detecção de comprimentos de onda, ocasionando uma grande melhoria no espectrômetro como instrumento analítico⁴¹.

Atualmente, os espectrômetros de fluorescência de raios X apresentam diferentes sistemas de excitação, detecção, geometria e outras concepções; como sistemas por dispersão de comprimento de onda (WDXRF), por dispersão de energia (EDXRF), reflexão total (TRXRF) e micro fluorescência (μ XRF).

A seguir são apresentados tópicos básicos das técnicas de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WDXRF)^{20, 33, 42} e por dispersão de energia (EDXRF)^{33,34}, utilizadas no presente trabalho.

Na espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WDXRF), a radiação fluorescente característica produzida a partir de uma fonte de excitação controlada, é difratada ao incidir em um cristal analisador, obedecendo a Lei de Bragg ($n\lambda = 2d \sin\theta$). Em seguida, esta radiação difratada é absorvida por detectores (proporcional a gás ou cintilação) e transformada em pulsos elétricos. A intensidade fluorescente característica é medida em termos de número de pulsos. Na FIGURA 1 é apresentada uma configuração básica do sistema WD apresentando os principais componentes, como fonte de raios X, cristal analisador, detector e sistema de aquisição e processamento de dados.

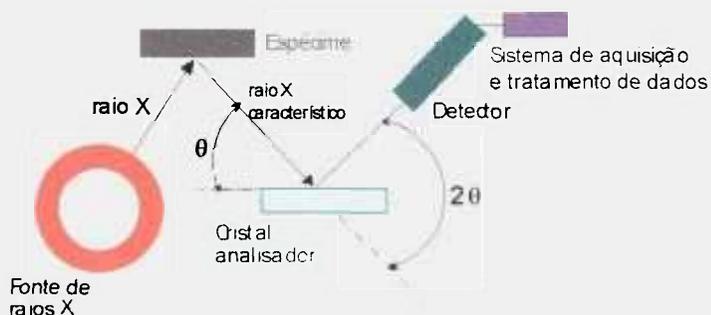


FIGURA 1 – Esquema básico de um espectrômetro de fluorescência, WDXRF.

No sistema de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF), os raios X característicos incidem em um detector eletrônico de estado

sólido, que produz pulsos elétricos com amplitude proporcional à energia da radiação incidente. Um “software” processa os pulsos elétricos em função da energia, visualizando o espectro de emissão característico dos elementos. Na FIGURA 2 são apresentados os componentes básicos de um espectrômetro sistema ED, que são: fonte de excitação, detector e analisador multicanal.

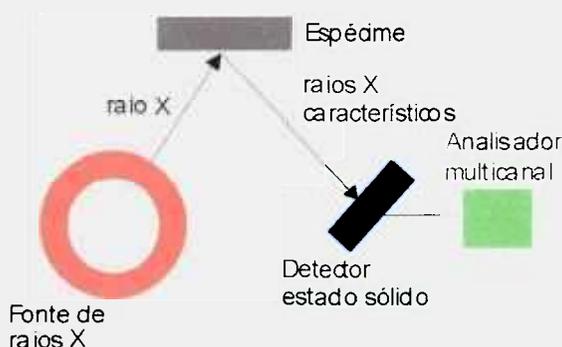


FIGURA 2 – Esquema básico de um espectrômetro de fluorescência, EDXRF.

1.3 – Levantamento bibliográfico

Existem ainda poucos trabalhos sobre a determinação de composição inorgânica em plantas medicinais brasileiras utilizando a técnica de fluorescência de raios X. A maioria dos trabalhos é originária de países como a China e Índia, que estudam a composição de suas plantas nativas. Existe, ainda, um número considerável de trabalhos científicos, cuja composição inorgânica é estudada para espécies utilizadas como bioindicadores de poluição atmosférica.

A seguir, são apresentadas as publicações relevantes, nos últimos anos.

ANJOS et al. (2002)⁴³ utilizaram a técnica de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) para determinação das concentrações de K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Zr and Pb em rabanetes (folhas e raízes) cultivados em solos tratados com adubo orgânico feito de lixo urbano. O trabalho mostrou menor concentração de K, Ca, Mn, Fe, Zn, Rb e Pb nesta leguminosa proveniente do solo de controle, mostrando que o rabanete poder ser utilizado como bioindicador de contaminação na agricultura.

SALVADOR et al. (2002)⁴⁴ determinaram os elementos ($22 \leq Z \leq 30$) das espécies *Matricaria chamomilla* L. (camomila), *Mentha piperita* L. (menta), *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (erva cidreira), *Malus domestica* Borkh. (chá de maçã) e *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze (chá preto), utilizando a técnica de

fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF). Estes elementos foram utilizados para a elaboração de um sistema de controle de qualidade.

MOHANTA et al (2003)⁴⁵ estudaram plantas medicinais analisando as suas partes constituintes como raiz, casca, folha e semente, originárias da região norte da Índia. Um total de 14 elementos foram estudados (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr e Pb). O trabalho mostra a variação das concentrações em diferentes partes das espécies. Ainda, as propriedades medicinais destas plantas e suas concentrações elementares foram correlacionadas.

CHUPARINA e Gunichuva et al (2001)⁴⁶ demonstraram os efeitos de absorção e excitação de raios X incidentes e da radiação característica na determinação de Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Mn, Fe, S, Sr e Cl em amostras de plantas na forma de pó. Foi demonstrada a necessidade da correção matricial.

BAMFORD et al. (2004)⁴⁷ demonstrara a aplicação de diferentes variantes da técnica de fluorescência de raios X na determinação de elementos tóxicos e traço essencial em materiais biológicos e plantas. Foi Demonstrada a utilização de diferentes sistemas de fluorescência de raios X para melhor caracterização química, numa variedade grande de materiais, principalmente amostras heterogêneas como materiais biológicos.

MOLCHANOVA et al. (2004)⁴⁸ estabeleceram um procedimento para determinação de Pb, Mo, Rb, As, Zn, Ni, Fe e Mn em materiais biológicos utilizando-se da técnica de fluorescência de raios X. Foi utilizado o método de padrão interno, utilizando-se o Ga como elemento de referência. Os efeitos de heterogeneidade da composição química e da densidade superficial conduziram à obtenção de resultados analíticos que variaram de 2,5 a 22%. Os erros decorrentes da preparação das amostras foram avaliados em termos de reprodutibilidade e exatidão.

EKINCI et al. (2004)²⁶ analisaram elementos traço em plantas medicinais com o uso da técnica de fluorescência de raios X com dispersão de energia (EDXRF). Neste trabalho foi discutido a presença de P, Cl, K, Ca, S, Al, Ti, V, Rb, Sr, Zr, Nb, Mo, In, Sn, I e Ce. Demonstrou a fundamentação física do método analítico e concluiu com a validação do método.

1.4 - Objetivos

Os principais objetivos deste trabalho foram:

1 - Estabelecer e validar um método de análise para a determinação de componentes inorgânicos em plantas medicinais, comercializadas em formas de pó (cápsulas) e “in natura”, utilizando a técnica de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WDXRF) e por dispersão de energia (EDXRF);

2 - Determinar um perfil inorgânico quantitativo para as espécies *Paulina cupana* (Guaraná), *Valeriana officinalis* (Valeriana), *Ginkgo folium* (Ginkgo biloba), *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro), *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão), *Malva officinalis* (Malva), *Salvia officinalis* (Sálvia), *Solidago microglossa* (Arnica), *Cordia salicifolia* (Porangaba) e *Calendula officinalis* (Calêndula), a partir de análises de amostras.

3 - Determinar as concentrações inorgânicas em partes constituintes (caules, folhas, flores e sementes) das espécies *Calendula officinalis* (Calêndula), *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro), *Arnica montana* (Arnica) e *Schinus molle* (Aroeira).

2 – PARTE EXPERIMENTAL

2.1 - Materiais e equipamentos

- Espectrômetro de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WDXRF), RIGAKU Co., modelo RIX 3000, 1996;
- Espectrômetro de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF), SHIMADZU Co., modelo EDX 900, 2001;
- Balança analítica, METTER, modelo H54;
- Triturador, SPEX, modelo Freezer/Mill;
- Estufa, FANEM ORION, modelo 515;
- Prensa hidráulica, B. HERZOG, modelo HTP40;
- Almofariz de ágata;
- Filme de polipropileno (mylar);
- Ácido bórico, pa;
- Materiais certificados produzidos pelo National Institute of Standards and Technology (NIST USA) e National Institute for Environmental Studies (NIES Japan).

2.2 – Amostragem de espécies

Os critérios para a escolha das plantas medicinais estudadas foram: serem conhecidas popularmente e de fácil amostragem.

A amostragem foi realizada em estabelecimentos comerciais, na cidade de São Paulo, especializados na venda destes tipos de produtos. Foram adquiridos produtos facilmente disponíveis de procedências ou marcas diferentes.

Cada planta medicinal foi amostrada de 3 procedências diferentes. Nem todas as espécies foram encontradas na forma de pó (cápsulas), para estas foram amostradas apenas na forma “in natura”.

Na TABELA 1, encontram-se relacionadas as espécies escolhidas com seu nome científico, nome popular, partes terapêuticas utilizadas, formas comercializadas, procedências comerciais e suas principais indicações terapêuticas.

As amostras “in natura” (*Schinus molle*, *Calendula officinalis*, *Solidago microglossa*, *Salvia officinalis* e *Echinodorus macrophyllus*) apresentaram uma grande heterogeneidade em partes constituintes, para as diferentes procedências.

Foram observadas quantidades diferentes em folhas, flores, sementes ou caules. As amostras em pó (cápsulas) apresentaram aspecto físico homogêneo, porém apresentaram pequenas variações em coloração entre diferentes procedências.

TABELA 1 – Plantas medicinais amostradas

<i>Nome científico</i>	<i>Nome popular</i>	<i>Partes terapêuticas</i>	<i>Formas comerciais</i>	<i>Procedências comerciais</i>	<i>Indicações Terapêuticas</i>
<i>Paulina cupana</i>	Guaraná	Sementes	Pó Cápsulas	Guaraná Tibiriçá Herbarium e BIOHS	estimulante, enxaqueca
<i>Valeriana officinalis</i>	Valeriana	Raizes	"in natura" cápsulas	Rainha da Mata, Farmaervas e As Plantas Curam DrogaVerde, Nature's e Twinlab.	insônia, taquicardia
<i>Ginkgo folium</i>	Ginkgo Biloba	Folhas	"in natura" cápsulas	Farmaervas, Droga Verde e Ananda Herbarium, Optimum Nutrition e As Plantas Curam	memória, tromboses
<i>Echinodorus macrophyllus</i>	Chapéu de Couro	Folhas, caules, sementes	"in natura" cápsulas	Ananda, As Plantas Curam e Farmaervas Drogavegetal, BIOHS e Herbarium	diurético, prostatite, amidalite
<i>Stryphnodendron barbatiman</i>	Barbatimão	Caules	"in natura"	As Plantas Curam, Ananda e Farmaervas	inflamações, diarréia, feridas
<i>Malva officinalis</i>	Malva	Folhas	"in natura"	Farmaervas, Ananda e As Plantas Curam	inflamações da boca, garganta
<i>Salvia officinalis</i>	Sálvia	Folhas e caules	"in natura"	Farmaervas, Ananda e As Plantas Curam	digestão, feridas
<i>Solidago microglossa</i>	Arnica	Folhas, flores e caules	"in natura"	Farmaervas, Ananda e As Plantas Curam	contusões, enjôo
<i>Cordia salicifolia</i>	Porangaba	Folhas	"in natura" cápsulas	Farmaervas, As Plantas Curam e Ananda. Dr. Alberto Seabra, Brasmed e Drogaverde	diurético, emagrecimento
<i>Calendula officinalis</i>	Calêndula	Flores, folhas	"in natura"	Drogaverde, As Plantas Curam e Ananda	expectorante, anti- séptica, cicatrizante
<i>Schinus molle</i>	Aroeira	Folhas, caules e sementes	"in natura"	Drogahervas e As Plantas Curam	febres, tumores
<i>Arnica montana</i>	Arnica	Folhas, flores e caules	"in natura"	Drogavegetal	contusões, enjôo

2.3 – Determinação de composição inorgânica das plantas medicinais nas formas “in natura” e cápsulas.

Técnica analítica: WDXRF

2.3.1 – Preparação das amostras

A preparação das amostras foi realizada seguindo as etapas abaixo relacionadas.

1. As amostras “in natura” e cápsulas foram retiradas de suas embalagens originais e condicionadas em frascos de polipropileno.

2. As amostras “in natura” foram moídas a temperatura de N₂ líquido, utilizando um triturador da SPEX, modelo Freezer/Mill.

3. Após a moagem, elas foram homogeneizadas em um almofariz de ágata por cerca de 30 a 40 minutos.

4. Em seguida, a granulometria do pó foi uniformizada por meio de peneira 200 *mesh*.

5. O pó, assim obtido, foi seco em estufa a 100±2 °C por 3 horas.

6. Todas as amostras foram preparadas em forma de pastilhas prensadas de dupla camada. Cerca de 1 g da amostra foi misturada com 3 a 6 gotas de álcool polivinílico, solução aquosa 10%; e prensadas sobre uma camada de ácido bórico na prensa hidráulica. Na obtenção das pastilhas foram estabelecidos os parâmetros de prensagem na prensa hidráulica, aonde a pressão e o tempo requeridos foram estabelecidos em função da quantidade do material aglutinante adicionado. As pastilhas assim preparadas apresentaram boa homogeneidade e resistência mecânica boas.

As amostras em forma de cápsulas receberam o mesmo tratamento, excluindo somente a etapa da moagem.

As espécies analisadas pela técnica de WDXRF, encontram-se relacionadas na TABELA 2.

TABELA 2 – Plantas medicinais analisadas pela técnica de WDXRF

<i>Nome científico</i>	<i>Nome popular</i>	<i>Formas comerciais</i>
<i>Paulina cupana</i>	Guaraná	pó cápsulas
<i>Valeriana officinalis</i>	Valeriana	“in natura” cápsulas
<i>Ginkgo folium</i>	Ginkgo biloba	“in natura” cápsulas
<i>Cordia salicifolia</i>	Porangaba	cápsulas “in natura”
<i>Echinodorus macrophyllus</i>	Chapéu de couro	“in natura” cápsulas
<i>Calendula officinalis</i>	Calêndula	“in natura”
<i>Solidago microglossa</i>	Arnica	“in natura”
<i>Stryphnodendron barbatiman</i>	Barbatimão	“in natura”
<i>Malva officinalis</i>	Malva	“in natura”
<i>Salvia officinalis</i>	Sálvia	“in natura”

2.3.2 – Parâmetros instrumentais de medida

Foram estabelecidos para cada elemento, os parâmetros instrumentais de medida como: excitação (kV, mA), colimador, filtro, atenuador, cristal analisador, detector e tempo de contagem. As linhas de emissão $K\alpha$ dos elementos (Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr) foram escolhidas por estas apresentarem-se livres de interferências espectrais.

Os parâmetros instrumentais de medida estabelecidos, no espectrômetro de fluorescência de raios X, (WDXRF, RIGAKU Co. Modelo RIX3000) encontram-se relacionados na TABELA 3.

TABELA 3 – Parâmetros instrumentais de medida estabelecidos no espectrômetro WDXRF

Elemento	Linha de emissão	Colimador	Cristal analisador	Detector	Tempo de contagem (s)	
					Linha de emissão	"Background"
Na	K α	grosso	TAP	PC	100	10
Mg	K α	grosso	TAP	PC	80	10
P	K α	grosso	Ge (111)	PC	60	10
S	K α	grosso	Ge (111)	PC	60	10
Cl	K α	fino	Ge (111)	PC	60	10
K	K α	grosso	LiF (200)	PC	60	10
Ca	K α	grosso	LiF (200)	PC	60	10
Mn	K α	grosso	LiF (200)	SC	100	10
Fe	K α	grosso	LiF (200)	SC	60	10
Ni	K α	grosso	LiF (200)	SC	300	10
Cu	K α	grosso	LiF (200)	SC	200	10
Zn	K α	grosso	LiF (200)	SC	60	10
Rb	K α	grosso	LiF (200)	SC	200	10
Sr	K α	grosso	LiF (200)	SC	100	10

TAP: fosfato de tálio

LiF: fluoreto de lítio

Ge: germânio

PC: Detector proporcional com fluxo de gás

SC: Detector de cintilação (NaI(Tl))

2.3.3 – Método de regressão linear

A determinação dos elementos foi realizada utilizando o método de regressão linear³⁴. As curvas de calibração individuais para os elementos Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr foram obtidas com materiais certificados da NIES 10-a, 10-b e 10-c – “Rice Fluor”, NIES 3 – “Chlorella”, NIES 1 – “Pepperbush”, NIES 7 – “Tea Leaves” e NIES 9 – “Sargasso”. Estes materiais certificados foram preparados na forma de pastilhas prensadas, utilizando o mesmo procedimento anteriormente descrito (2.3.1).

A partir de 4 repetições de medida para cada linha de emissão, uma relação linear entre as intensidades fluorescentes e concentração dos elementos foi obtida introduzindo-se correções adequadas de efeitos interelementares como

os de absorção total e de absorção e intensificação específicas. O algoritmo, instalado no espectrômetro, corrige o efeito matricial, conforme a equação (1)⁴⁹.

$$W_i = (a_i \cdot I_i + b_i + c) \{1 + K + \sum G_{ij} F_j + \sum Q_{ijk} F_j F_k + \sum R_{ij} F_j / (1 + W_i)\} + \sum H_{ij} F_j + \sum D_{ijk} F_j F_k + C \quad (1)$$

onde,

W_i = Concentração do elemento i

a, b, c = coeficientes de correção

I_i = intensidade fluorescente de raios X do elemento i

K = constante

G_{ij} = coeficiente de correção de efeito de absorção ou excitação do elemento j no elemento i

F_j = intensidade fluorescente de raios X corrigido do elemento i

Q_{ij} = coeficiente de correção de absorção secundária do elemento j no elemento i

R_{ij} = coeficiente de correção de excitação secundária do elemento j no elemento i

H_{ij} = coeficiente de correção de sobreposição do elemento j no elemento i

D_{ij} = coeficiente de correção de absorção/excitação específica

C = constante

Na TABELA 4, encontram-se relacionados os coeficientes de curva de calibração e a sensibilidade das curvas individuais para os elementos Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr.

TABELA 4 – Constantes de curvas de calibração e sensibilidade, sistema WDXRF

Elemento	Y=A+BX		Sensibilidade ($\mu\text{g g}^{-1}$)
	A	B	
Na	1,24983E5	-3,23868E2	4,9
Mg	6,9525E3	5,48584E1	386
P	4,34156E2	-8,46067E2	85
S	4,0857E2	2,52922E1	13
Cl	1,58444E3	4,7289E1	32
K	1,92022E2	-2,8223E2	259
Ca	8,78183E1	-5,84153E1	122
Mn	7,71785E1	-2,02171E-3	6
Fe	2,27819E2	-1,82465E1	2
Ni	8,0194E1	-4,29479	0,4
Cu	2,68055E1	-1,27017E-1	0,5
Zn	1,91233E1	8,04956E-1	2,3
Rb	1,32513E1	5,72872E-1	1,7
Sr	1,46039E1	-1,18193	5

2.4 – Determinação de composição inorgânica em partes constituintes (caule, folha, flor, semente) de plantas medicinais na forma “in natura”. Técnica analítica: EDXRF

2.4.1 – Preparação de amostras

Após o processo descrito no item 2.3.1, as partes constituintes das plantas (caules, folhas, flores, e sementes) foram separadas, secas (100 ± 2 °C, 3 horas) e condicionadas adequadamente em frascos de polipropileno.

Na TABELA 5, encontram-se relacionados as espécies selecionadas, constando o nome popular, nome científico, as partes utilizadas para fins terapêuticos e as partes analisadas.

O sistema EDXRF permite a execução de análise diretamente nas folhas, sementes, caules e flores não requerendo nenhuma preparação de amostras, devido à utilização de um feixe de raios X de 5 mm^2 . A amostra é introduzida num porta amostras com filme de Mylar (filme de poliéster, $5 \mu\text{m}$ de espessura) e sua posição de irradiação é ajustada com o auxílio de uma máscara.

TABELA 5 – Plantas medicinais analisadas por EDXRF

Nome científico	Nome popular	Partes utilizadas	Formas comerciais	Indicação terapêutica	Partes analisadas
<i>Calendula officinalis</i>	Calêndula	flor, folha	"in natura"	expectorante, anti-séptica cicatrizante	flor, folha
<i>Echinodorus macrophyllus</i>	Chapéu de couro	folha, casca, semente	"in natura"	diurético, prostatite, amigdalite	folha, casca, semente
<i>Arnica montana</i>	Arnica	folha, flor e caule	"in natura"	contusões, enjôo	caule, folha e flor
<i>Schinus molle</i>	Aroeira	folha, caule e semente	"in natura"	febres, tumores, culinária	caule, folha e semente

2.4.2 - Parâmetros instrumentais de medidas

A faixa de leitura é estabelecida em função da energia das radiações, de modo a obter melhor resolução das linhas de emissão características de cada elemento. Os parâmetros instrumentais de medida (tensão aplicada, filtro, faixa de energia) estabelecidos no espectrômetro (SHIMADZU Co., modelo EDX 900) encontram-se relacionadas na TABELA 6.

TABELA 6 - Parâmetros instrumentais de medida estabelecidos no espectrômetro EDXRF

Elemento	Tensão do tubo Rh (kV)	Filtro	Energia (keV)	Faixa Leitura (keV)
Na-K α	15	-	1,04	1 ~1,3
Mg-K α	15	-	1,25	1,16 ~1,37
P-K α	15	-	2,01	1,85 ~2,15
S-K α	15	-	2,31	2,2 ~2,4
Cl-K α	15	Al	2,62	2,53 ~2,7
K-K α	15	-	3,31	3,16 ~3,47
Ca-K α	15	-	3,69	3,52 ~3,85
Mn-K α	50	-	5,9	5,76 ~6,02
Fe-K α	50	-	6,4	6,24 ~6,56
Ni-K α	50	-	7,48	7,38 ~7,58
Cu-K α	50	-	8,04	7,84 ~8,24
Zn-K α	50	-	8,64	8,48 ~8,82
Rb-K α	50	-	13,38	13,3 ~13,5
Sr-K α	50	-	14,14	14 ~14,3

Condições experimentais fixas: colimador: 5mm; atmosfera: vácuo; corrente: 100 μ A;

tempo de medição: 100 segundos.

2.4.3 – Método de parâmetros fundamentais

A determinação dos elementos foi realizada utilizando o método de Parâmetros Fundamentais.

Este método baseia-se na obtenção de uma curva de sensibilidade. A sensibilidade específica para cada elemento é calculada a partir de uma relação das intensidades fluorescentes experimentais e teóricas. As intensidades teóricas são calculadas a partir de valores nominais de padrões ou materiais de referência utilizando os dados nucleares. As intensidades fluorescentes experimentais das radiações características dependem das condições instrumentais de medida estabelecidas no espectrômetro.

Foram preparadas pastilhas prensadas de materiais de referência certificado da NIES 9 – “Sargasso”, NIES 10C – “Rice Fluor” e amostras misturadas desses materiais em diferentes proporções. Foi determinada uma curva de sensibilidade para os elementos Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr. Na TABELA 7, encontram-se relacionados os coeficientes das curvas de sensibilidade para estes elementos.

TABELA 7 – Constantes das curvas de sensibilidade, sistema EDXRF.

Elementos	Tipo de curva	Coeficientes
Na	2	f = 0,0719355
		G = 0,0004520
Mg	1	f = 0,0920436
P	1	f = 0,1420608
S	1	f = 0,1973375
Cl	1	f = 0,2751975
K	1	f = 0,2286203
Ca	1	f = 0,4275593
Mn	1	f = 0,2308215
Fe	1	f = 0,2592916
Ni	2	f = 1,7235511
		G = 0,0111316
Cu	1	f = 0,1469692
Zn	1	f = 0,256569
Rb	1	f = 0,2866366
Sr	1	f = 0,1542832

Tipo 1: $EI = f \cdot T_{inet}$ Tipo 2: $EI = f \cdot T_{inet} + G$

onde: T_{inet} = intensidade teórica, f e G são coeficientes de ajuste da curva da intensidade determinada em função da intensidade teórica

2.5 – Métodos estatísticos para validação das metodologias⁵⁰

A partir do CRM NIST 1547-“Peach-Leaves”, foram preparadas 6 pastilhas paralelas. Para cada elemento foram realizadas 7 medidas das intensidades fluorescentes por pastilha, totalizando 42 medidas para cada radiação característica. Este procedimento foi realizado para os dois sistemas WDXRF e EDXRF, na avaliação da homogeneidade dos resultados e da exatidão dos métodos utilizados.

No sistema WDXRF, estes dados foram extrapolados nas curvas de calibração individuais e determinados a concentração dos elementos. No sistema EDXRF, a concentração dos elementos foi determinada por meio da curva de sensibilidade, introduzindo as intensidades fluorescentes das radiações características.

Os seguintes testes estatísticos foram aplicados na avaliação da repetibilidade dos resultados.

1. A eliminação de valores dispersos (“outliers”) foi realizada aplicando o teste de rejeição do Critério de Chauvenet⁵¹ (equação 2) para cada conjunto de dados de cada elemento. Após a eliminação dos “outliers” foi calculado a média e o seu desvio padrão.

$$|x_i - \bar{x}| > k_{(n)} s \quad (2)$$

x_i = valor de uma medição

\bar{x} = média aritmética do conjunto

$k_{(n)}$ = coeficiente de Chauvenet tabelado

s = desvio padrão do conjunto

2. Em seguida, foi aplicado o critério de Cochran⁵², segundo a equação (3), que baseia na lei de distribuição da relação entre o valor da maior variância encontrada com a soma de todas as variâncias, como pré-requisito para análise das variâncias (ANOVA)⁵³

$$G_{\max} = \frac{s_{\max}^2}{\sum s_j^2} \quad (3)$$

G_{\max} = valor tabelado do Critério de Cochran para k, (n-1) graus de liberdade onde k é o número de variâncias a serem comparadas e n-1 é o número de graus de liberdade de cada variância.

s_{\max}^2 = valor da maior variância

$\sum s_j^2$ = somatória de todas as variâncias

3. Aceitando-se a igualdade das variâncias, procedeu-se o cálculo da tabela ANOVA, segundo a TABELA 8.

Tabela 8 – Análise de variâncias – ANOVA⁵³

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio	F
Entre grupos $V_b = b \sum_j (\bar{X}_j - \bar{X})^2$	$\alpha - 1$	$\hat{S}_b^2 = \frac{V_b}{\alpha - 1}$	$\frac{\hat{S}_b^2}{\hat{S}_w^2}$
Dentro dos grupos $V_w = V - V_b$	$a(b - 1)$	$\hat{S}_w^2 = \frac{V_w}{a(b - 1)}$	
Variação total $V = \sum_{j,k} (X_{jk} - \bar{X})^2$	$ab - 1$		

Verificando-se o aceite da hipótese H_1 foi aplicado o teste de menor diferença significativa entre médias⁴⁶, de acordo com a equação (4).

$$V = t_{\frac{\alpha}{2}, c(n-1)} S \sqrt{\frac{1}{n}} \quad (4)$$

$\alpha = 0,05$ para um nível de confiança de 95%

$c(n-1)$ = graus de liberdade

$t_{\frac{\alpha}{2}, c(n-1)}$ = valor tabelado da distribuição t-student

Na avaliação da exatidão dos métodos foi calculado, novamente, a média e o seu desvio padrão e aplicado o teste de Z-score^{43,54}, segundo a equação (5), que pondera o desvio padrão da amostra certificada e o desvio padrão do laboratório.

$$Z = \frac{\bar{x}_{det} - x_{cert}}{\sqrt{\sigma_{det}^2 + \sigma_{cert}^2}} \quad (5)$$

Os valores de Z-score $-1 < z < 1$ indicam os resultados com excelente exatidão; boa para valores entre $-2 < z < 2$ e uma exatidão satisfatória para os resultados entre $-3 < z < 3$. Os valores de Z-score $> -3 < z < 3$ indicam exatidões insatisfatórias.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Avaliação dos resultados obtidos pelas técnicas WDXRF e EDXRF

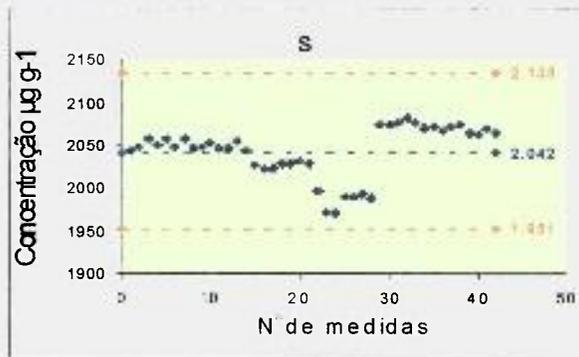
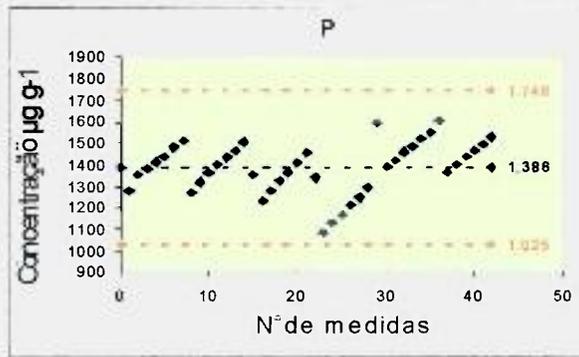
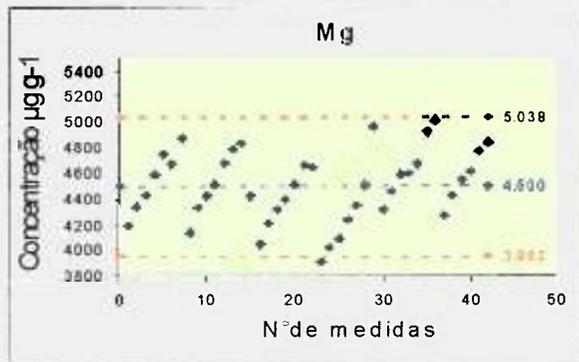
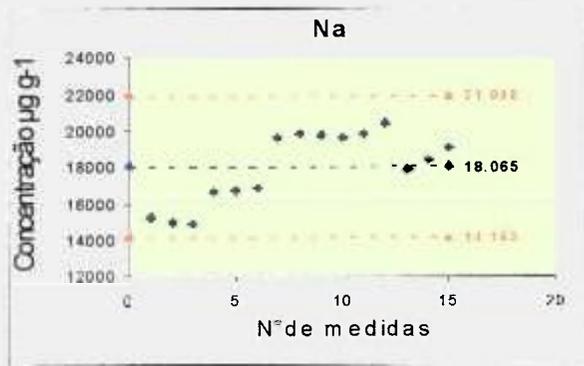
3.1.1 – Avaliação da homogeneidade dos resultados, sistema WDXRF

Os resultados obtidos no item 2.5 para o CRM NIST 1547– “Peach Leaves”, foram tratados com os testes de Chauvenet, Cochran e ANOVA para avaliação da homogeneidade de resultados.

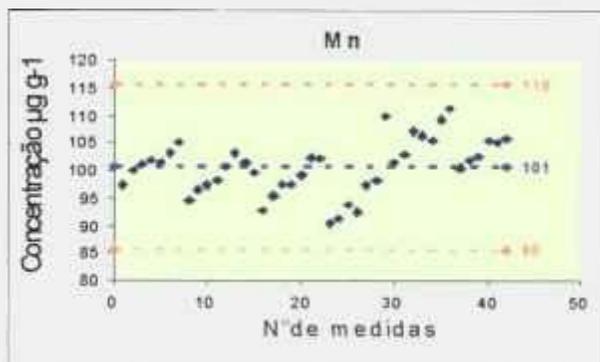
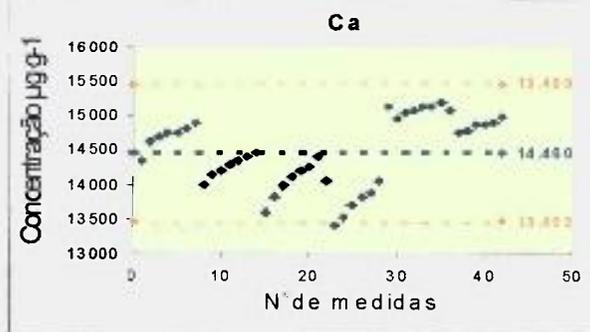
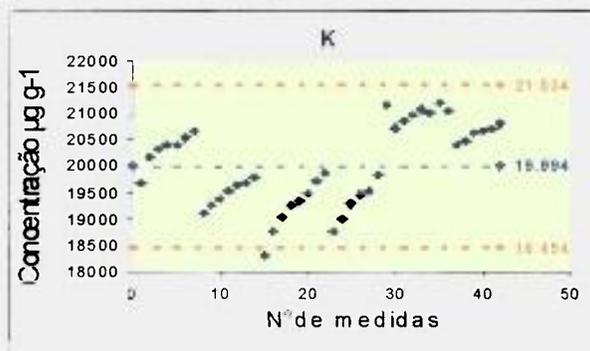
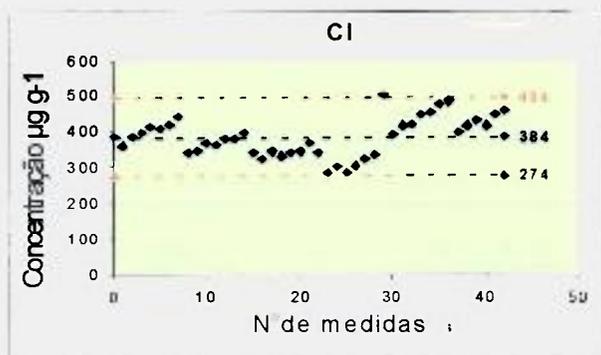
Os resultados obtidos pela análise de variância (ANOVA) mostraram para todas as amostras, a rejeição da hipótese H_0 significando que nem todas as médias das populações individuais são iguais. Porém, ao se calcular a menor diferença significativa entre as médias pode-se agrupar estas em grupos homogêneos. Na FIGURA 3, encontram-se relacionados a dispersão de resultados em torno da média dos elementos Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr.

Nesta figura observa-se que cada elemento apresenta uma distribuição de seus dados de forma diferenciada, ora mais agrupada em torno da média ora mais dispersa. Porém, os dados de todos os elementos encontram-se no intervalo de $\pm 3\sigma$, com exceção do Cl e do Zn que se encontram no intervalo de $\pm 2\sigma$.

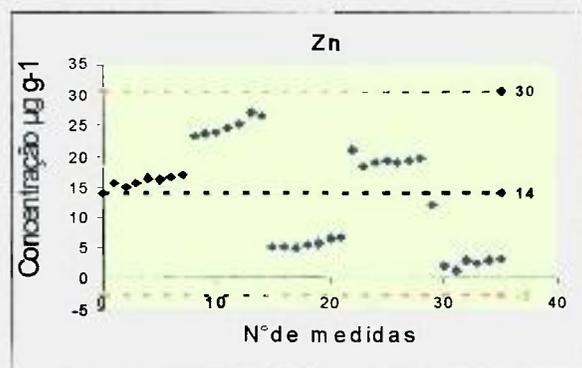
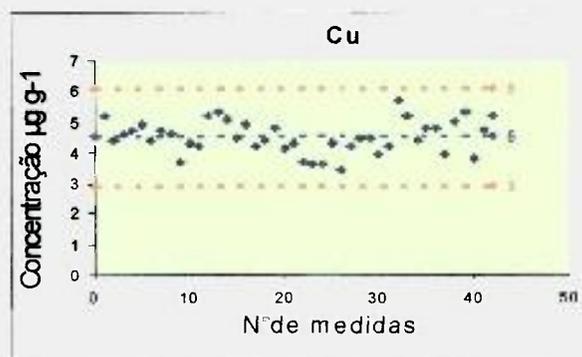
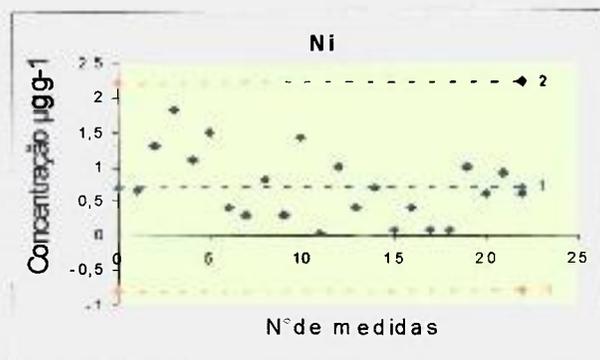
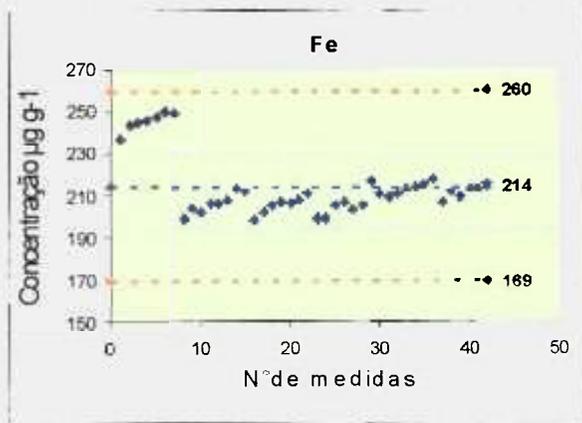
A precisão das medidas, avaliada em termos de valores de coeficiente de variação percentual (TABELA 9), demonstra uma boa repetitividade na determinação dos elementos Ca, S, Sr, Fe, P, Mg, Mn, K e Rb (CV 1,5 a 8,8%). Uma precisão satisfatória foi observada na determinação de Cl e Cu (CV 14,2 e 11,1%, respectivamente). Uma grande variação foi observada na determinação de Ni (CV: 71,4%) e Zn (CV 60,1%). Esta dispersão de resultados pode ser melhor observada na FIGURA 3 onde os resultados de Zn e Cu em torno da média encontram-se mais dispersos. Mas a aplicação da análise de variância (ANOVA) indica a homogeneidade de todos os resultados no intervalo de $\pm 3\sigma$.



continua



continua



continua

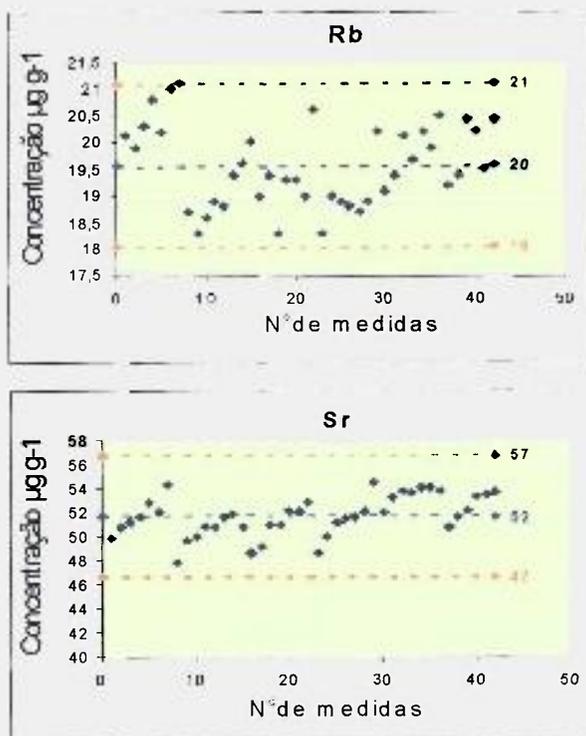


FIGURA 3 – Dispersão dos resultados – Teste ANOVA. CRM: NIST 1547 – “Peach Leaves”. Método de regressão linear, WDXRF.

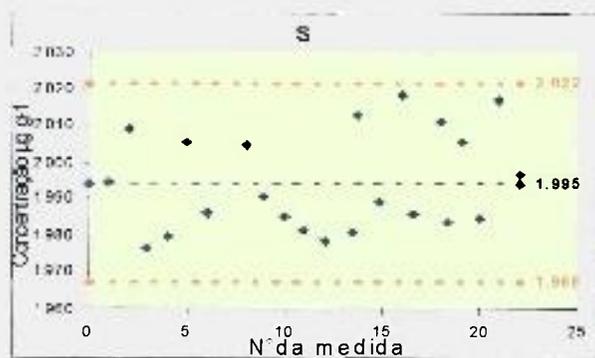
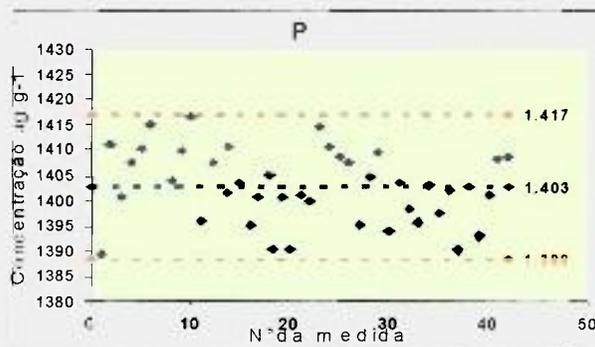
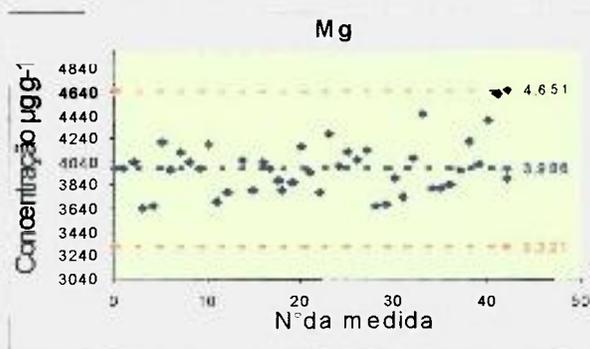
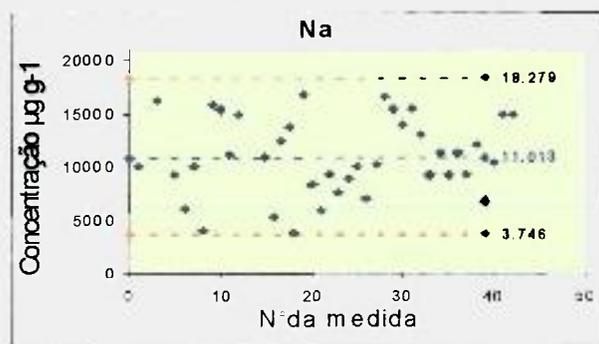
3.1.2 - Avaliação da homogeneidade dos resultados, sistema EDXRF

Da mesma forma anterior, os resultados NIST 1547-Peach Leaves foram tratados estatisticamente pelo critério de Chauvenet, de Cochran e tratamento ANOVA.

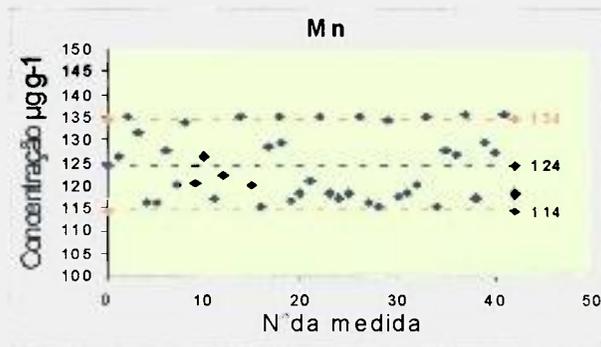
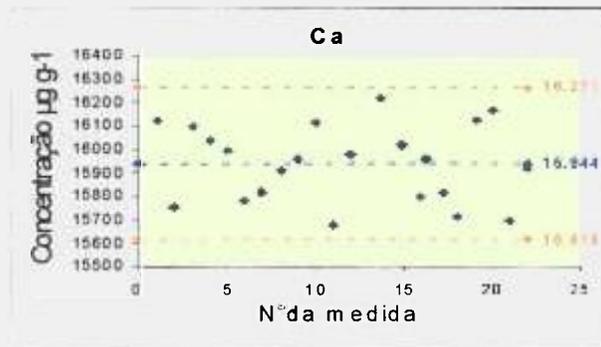
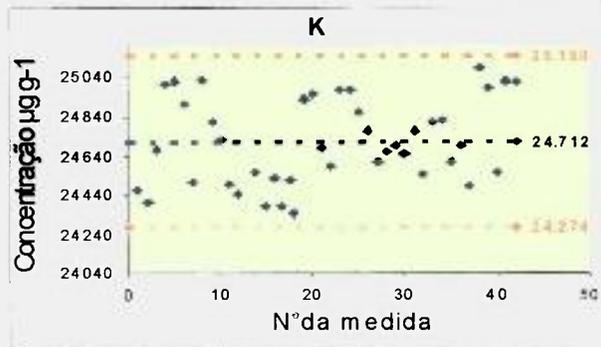
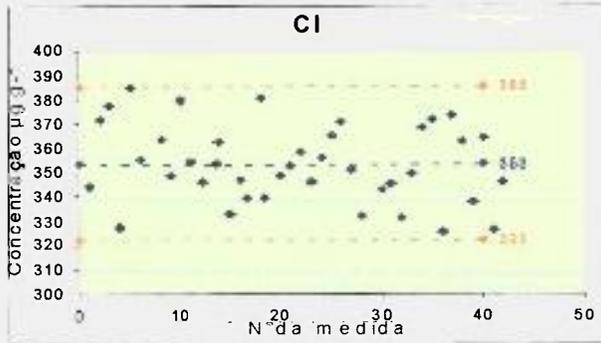
Os resultados obtidos, pela análise de variância (ANOVA), indicaram a rejeição da hipótese H_0 significando que nem todas as médias das populações individuais são iguais. Porém, da mesma forma anterior, o valor da menor diferença significativa, entre as médias, indica que os dados são agrupados em grupos homogêneos (FIGURA 4). Cada elemento apresenta uma distribuição de seus dados de forma diferenciada, com menor ou maior amplitude ao redor da média. Ainda, a FIGURA mostra a dispersão dos resultados de P, Cl, Mn, Fe e Rb num intervalo $\pm 2\sigma$, enquanto que, os resultados dos elementos Mg, S, K, Ca, Cu, Zn e Sr encontram-se dispersos num intervalo de $\pm 3\sigma$. O teor do Ni foi determinado somente na forma indicativa como $<1 \mu\text{g g}^{-1}$.

A precisão dos resultados, avaliada em termos de coeficiente de variação percentual (TABELA 10), demonstra uma boa repetitividade, cujos valores para todos os elementos analisados encontram-se entre 0,5 a 9,0%.

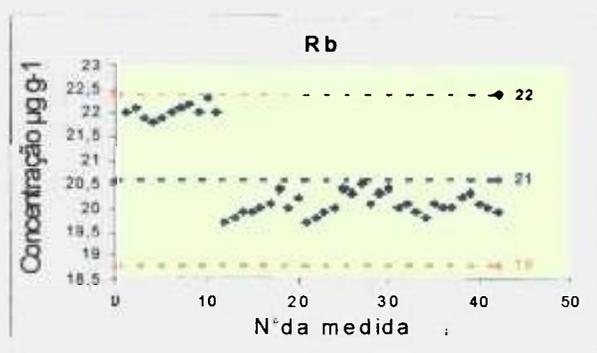
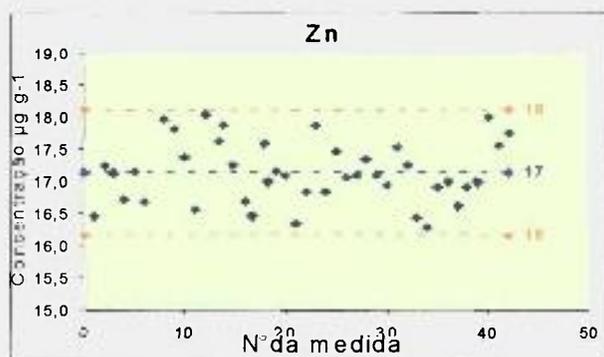
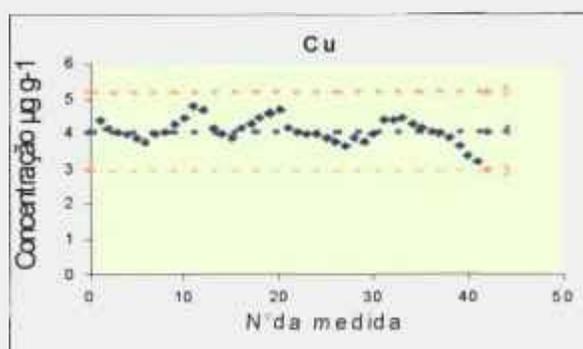
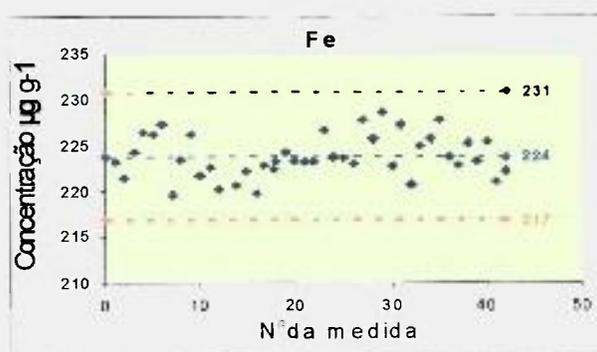
Comparando os dados da técnica WDXRF e EDXRF, em termos de homogeneidade dos resultados, verifica-se menor agrupamento de resultados para o sistema ED, onde os resultados são mais dispersos em torno da média. Ao passo que, o sistema WD apresenta maior agrupamento dos resultados. Este fato pode ser atribuído ao sistema de detecção; onde os detectores de cintilação (NaI(Tl)) e proporcional com fluxo de gás apresentam uma maior estabilidade de contagem para a medida das intensidades fluorescentes.



continua



continua



continua

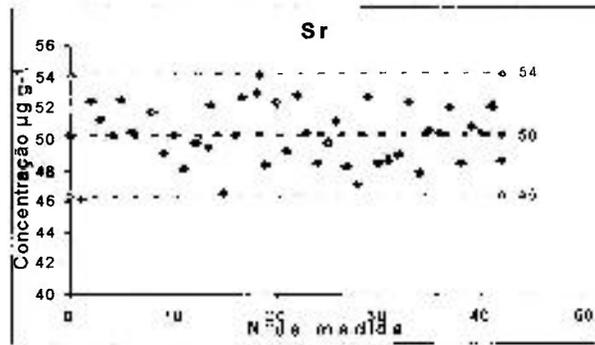


FIGURA 4 – Dispersão dos resultados – Teste ANOVA. CRM: NIST 1547- “Peach Leaves”. Método de Parâmetros Fundamentais, EDXRF

3.1.3 – Avaliação da exatidão, sistema WDXRF

Os valores obtidos (média e desvio padrão) e correspondentes valores certificados do CRM NIST 1547-“Peach Leaves” encontram-se relacionados na TABELA 9. Na mesma TABELA, encontram-se relacionados os valores de coeficiente de variação percentual (CV%) e o erro relativo percentual. Na validação do Na foi utilizado o CRM NIES 9-Sargasso.

Tabela 9 - Valores certificados e determinados do CRM NIST 1547-“Peach Leaves”. Método de Regressão Linear, WDXRF

Elemento $\mu\text{g g}^{-1}$	$\bar{x}_{\text{det}} \pm \sigma_{\text{det}}$	$x_{\text{cert}} \pm \sigma_{\text{cert}}$	C.V. %	Erro Relativo %
Na *	18065±1940	17000±800	10,0	6,0
Mg	4500±269	4320±80	6,0	4,2
P	1387±121	1370±70	8,8	1,2
S	2045±31	[2000]	1,5	-
Cl	384,2±54,6	360±9	14,2	6,6
K	19995±770	24300±300	3,8	17,7
Ca	14460±504	15600±200	3,5	7,3
Mn	101±5	98±3	5,0	3,0
Fe	215±15	218±14	7,0	1,4
Ni	0,7±0,5	0,69±0,09	71,4	1,4
Cu	4,5±0,5	3,7±0,4	11,1	21,6
Zn	13,8±8,3	17,9±0,4	60,1	23,0
Rb	19,6±0,8	19,7±1,2	4,0	0,5
Sr	52±2	53±4	3,8	1,9

$\bar{x}_{\text{det}} \pm \sigma_{\text{det}}$: média e o desvio padrão experimental - $x_{\text{cert}} \pm \sigma_{\text{cert}}$: valores do certificados

* CRM utilizado: NIES 9 Sargasso

O teste de Z-score foi aplicado para a avaliação da exatidão, cujos valores encontram-se relacionados na FIGURA 5. A determinação na Mg, P, Cl, Mn, Fe, Ni, Zn, Rb e Sr demonstrou uma ótima exatidão, cujos valores encontram-se entre o intervalo $-1 < Z < 1$. Os elementos Ca e Cu apresentaram também uma boa exatidão, cujos valores de Z-score encontram-se no intervalo de $-2 < Z < 2$. O K apresentou um valor de Z-score de -5,2, indicando que este método não corrige adequadamente o efeito de absorção das intensidades fluorescentes K K α .

O valor de Z-score não foi determinado para S uma vez que seu valor no CRM NIST 1547 é indicativo.

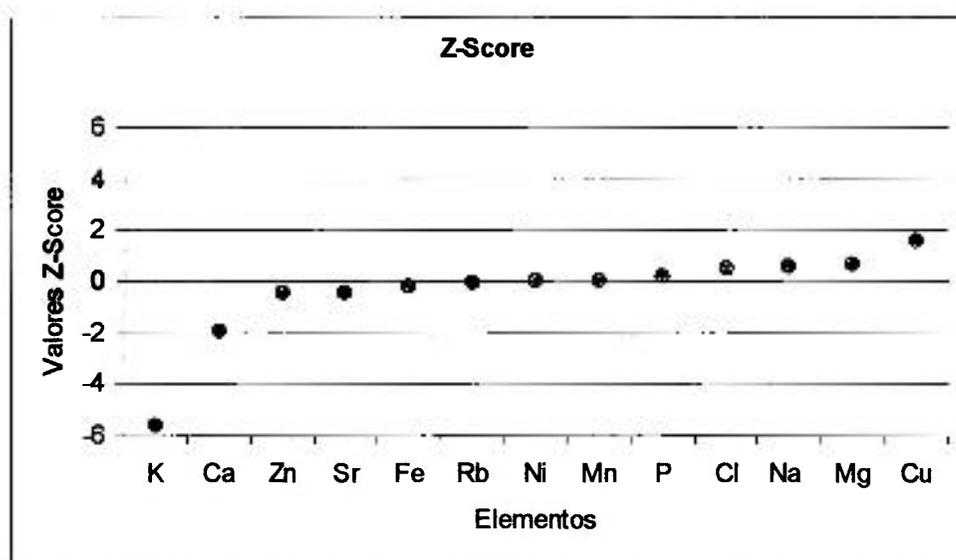


Figura 5 - Valores Z-score para CRM NIST 1547-“Peach Leaves”.
Método de Regressão Linear, WDXRF.

3.1.4 - Avaliação da exatidão, sistema EDXRF

A avaliação do método de Parâmetros Fundamentais foi realizada novamente com os resultados experimentais do CRM NIST 1547- “Peach Leaves”. Na TABELA 10, encontram-se relacionados os valores certificados, determinados, coeficiente de variação percentual e erro relativo percentual.

A partir de valores de erro relativo percentual, pode-se concluir que o método de Parâmetros Fundamentais permite obter resultados ótima exatidão na determinação dos elementos Mg, P, S, Cl, K, Ca, Fe, Zn e Sr; cujos valores de erros relativos encontram-se entre 0,2 a 7,7%. Uma exatidão satisfatória pode ser observada para a determinação do Rb e Cu, respectivamente, apresentando um

erro relativo percentual de 16,0 e 12,2%. O Mn apresentou um erro relativo de 21,6%.

Os valores determinados de Z-score encontram-se relacionados na FIGURA 6. Os resultados indicam uma excelente exatidão na determinação dos elementos Cl, P e K (Z-score: $-1 \langle Z \langle 1$). Uma boa exatidão na determinação de Cu, Ca e Mg (Z-score; $-2 \langle Z \langle 2$), e uma exatidão satisfatória para determinação de Mn e Fe (Z-score: $-3 \langle Z \langle 3$). O método de Parâmetros Fundamentais não apresentou uma boa exatidão na determinação de Zn, Rb e Sr, cujos valores de Z-score são 4,9; -5,3 e -6,9 respectivamente. Este resultado pode ser atribuído à da curva de sensibilidade experimental. Usualmente, a obtenção das curvas de sensibilidade requer a introdução de um grande número de dados para uma boa definição da curva.

Na TABELA 11 é resumida as principais vantagens e desvantagens entre as técnicas WDXRF e EDXRF, onde são relacionados os parâmetros como custo, manutenção, tempo de análise, reprodutibilidade, exatidão e outros. Pode-se concluir que, a utilização ou a escolha de técnicas instrumentais de análise deve ser realizada considerando a real necessidade das tarefas analíticas. Ainda, nestas tarefas analíticas, o fundamental é determinar a acurácia do método. O conhecimento da reprodutibilidade e exatidão do método utilizado conduzirá, certamente, na interpretação correta dos resultados.

TABELA 10 - Valores certificados e determinados do CRM NIST 1547- "Peach Leaves". Método de Parâmetros Fundamentais, EDXRF

Elemento $\mu\text{g g}^{-1}$	$\bar{x}_{\text{det}} \pm \sigma_{\text{det}}$	$x_{\text{cert}} \pm \sigma_{\text{cert}}$	C.V. %	Erro Relativo %
Na *	11012±3633	17000±800	7,8	35,0
Mg	3986±222	4320±80	5,3	7,7
P	1403±7	1370±70	0,5	2,4
S	1995±27	(2000)	1,3	0,2
Cl	354±17	360±9	4,8	1,6
K	24712±379	24300±300	1,5	1,7
Ca	15946±163	15600±200	1,0	2,2
Mn	125±10	98±3	8,0	21,6
Fe	224±2	218±14	0,9	2,7
Ni	<1	0,69±0,09		
Cu	4,4±0,4	3,7±0,4	9,0	16,0
Zn	17,2±0,6	17,9±0,4	3,5	4,0
Rb	22,1±1,3	19,7±1,2	5,9	12,2
Sr	50±2	53±4	4,0	6,0

$\bar{x}_{\text{det}} \pm \sigma_{\text{det}}$: média e o desvio padrão do laboratório - $x_{\text{cert}} \pm \sigma_{\text{cert}}$: valores do certificados

* CRM utilizado: NIES 9 Sargasso

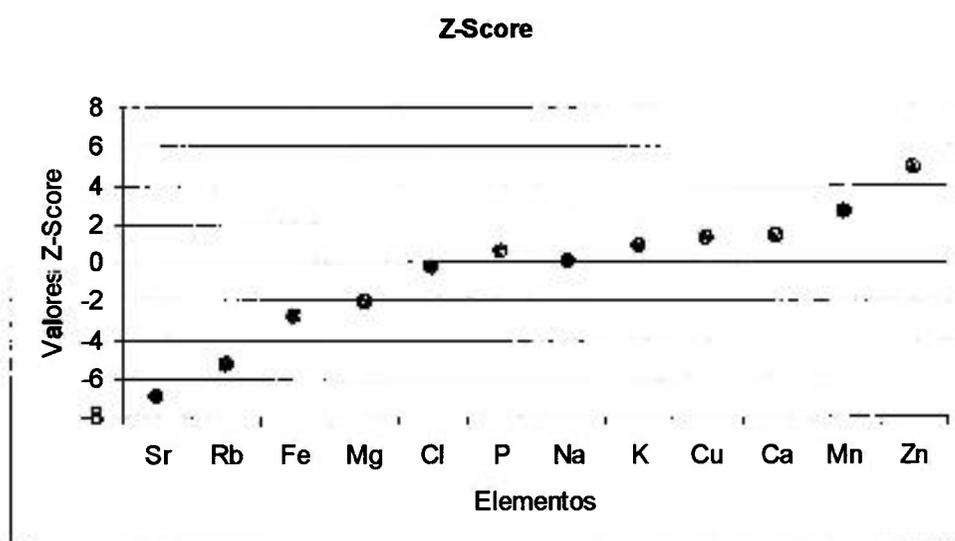


Figura 6 - Valores Z-score para Amostra certificada NIST 1547- "Peach Leaves".
Método de Parâmetros Fundamentais, EDXRF

TABELA 11 – Comparação entre as técnicas WDXRF e EDXRF

	WD-XRFS	ED-XRFS
Custo	Elevado	Intermediário
Manutenção	Intermediário	Baixo
Instalação	Elevado	Baixo
Elementos determinados	Na-U	Na-U
Tipo de detecção	Seqüencial	Simultâneo
Tempo de análise	Demorada	Rápida
Faixa de operação	%-µg g ⁻¹	%-µg g ⁻¹
Limite de quantificação *	>1µg g ⁻¹	>1µg g ⁻¹
Tamanho das amostras	Área: >5 mm ²	Área: >1 mm ²
Reprodutibilidade das medidas	Alta	Boa/alta
Exatidão	Alta	Boa/alta
Nº de padrões / CRMS requeridos	Discreto	Grande

* para elementos de número atômico >20

3.2 – Determinação de Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr em plantas medicinais “in natura” e cápsulas. Perfis inorgânicos quantitativos.

As espécies *Cordia salicifolia* (Porangaba), *Ginkgo folium* (Ginkgo biloba), *Valeriana officinalis* (Valeriana) e *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro) foram amostrados nas formas “in natura” e pó (cápsulas), cada uma com 3 procedências distintas. Os resultados encontram-se relacionados nas TABELAS 12 a 18. Os valores de S e K foram avaliados como valores indicativos, uma vez que o método utilizado no trabalho apresentou para o K, um valor de Z-score de -5,9; e o valor de S no CRM NIST 1547-“Peach Leaves” é indicativo.

A avaliação da composição química para todas as espécies estudadas (TABELAS 12 a 18), apresentou uma razoável variação elementar nas formas amostradas (“in natura” e cápsulas) e entre as procedências.

Na TABELA 19 é apresentada a variação elementar entre as formas amostradas e procedências da espécie *Ginkgo folium* (Ginkgo biloba). Nesta TABELA, pode ser observada que a repetibilidade das medidas encontra-se, em termos de coeficiente de variação percentual (CV%), entre 0,2 e 7,2%; exceto para a determinação de Ni e Cu que apresentou um valor entre 3,9 a 22,2%. O conteúdo destes elementos encontra-se numa faixa de 1 dígito de concentração. Nesta condição, a técnica de WDXRF pode apresentar uma incerteza de até 50%

e, os valores de 0,2 a 7,2% são valores de coeficiente de variação percentual característicos da técnica. Entretanto, a média das procedências (Proc 1, Proc 2 e Proc 3), na forma "in natura", apresentou uma variação elementar de 7,2 a 49,6%, indicando a heterogeneidade das amostras. A média das procedências na forma de cápsulas apresentou uma variação elementar de 6,6 a 40,3%. Este último resultado pode ser atribuído, também, a heterogeneidade da amostra, sugerindo que a obtenção em forma de pó deve partir de uma amostra global, contendo também quantidades diferenciadas das partes constituintes da espécie. A média global das 6 procedências apresentou uma variação elementar de 2,1 a 43,7%. A mesma ordem de variação elementar (5,2 a 44,3%) pode ser observada para a espécie *Paulina cupana* (Guaraná), amostrada na forma de cápsulas para 3 procedências (TABELA 20).

Na FIGURA 7, pode ser observada a heterogeneidade da espécie *Malva officinalis* (Malva), onde uma procedência apresenta uma quantidade maior em caules, enquanto que as demais procedências em folhas e flores.

Associada a esta diferença em amostras globais, ainda deve ser considerado, em menor grau, o aspecto genótipo das espécies. Cada espécie possui uma capacidade de absorver certos elementos químicos de forma diferenciada, cujo fator de absorção depende principalmente da composição do solo, umidade e exposição ao sol. Portanto, variação elementar pode ser observada para a mesma espécie, dependendo das condições climáticas do cultivo.

TABELA 12 - Composição química da espécie

Cordia salicifolia (Porangaba)

<i>Espécie: Cordia salicifolia (Porangaba)</i>						
Elementos	Forma: "in natura"			Forma: cápsula		
	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3
$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$						
Na	<50	6164±116	<50	<50	200±35	944±57
Mg	6117±96	2929±88	9471±52	4038±62	2365±63	998±39
P	941±38	807±18	1193±15	832±8	540±25	488±15
S	(3084)	(2584)	(4362)	(2518)	(2411)	(2381)
Cl	4343±38	4247±24	5048±12	4147±37	4353±17	3570±56
K	(11991)	(14184)	(21620)	(15780)	(10609)	(15596)
Ca	10721±461	5618±246	20012±570	11730±300	7755±329	7195±170
Mn	465±20	2162±22	473±20	186±15	712±10	1530±15
Fe	164±1	169±2	141±3	265±2	521±4	373±3
Ni	<1	5,7±0,6	1,4±0,2	<1	4±1	<1
Cu	16,6±0,3	8,9±0,3	33,2±0,2	13,8±0,3	12,3±0,7	6,6±0,1
Zn	34,5±1,5	<1	<1	<1	<1	<1
Rb	38,3±0,2	91±1	37,1±0,1	50,9±0,4	105,4±1,1	63,2±0,5
Sr	166,9±1,1	100,4±0,8	260,5±0,5	130,4±0,8	190,4±0,7	83,6±0,4

Nº de medidas: 4

TABELA 13 - Composição química da espécie

Ginkgo folium (*Ginkgo biloba*)

<i>Espécie: Ginkgo folium (Ginkgo biloba)</i>						
Elementos	Forma: "in natura"			Forma: cápsula		
	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3
$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$						
Na	<50	<50	<50	<50	206±56	<50
Mg	5332±123	9227±167	5122±98	10833±190	4868±158	10791±178
P	3302±158	4356±69	4260±101	2646±99	1807±102	1922±34
S	(2835)	(1309)	(1315)	(2610)	(2487)	(4023)
Cl	4223±28	2106±24	1751±33	3110±24	2394±9	2286±37
K	(11582)	(9556)	(15478)	(6305)	(8298)	(5282)
Ca	15361±792	13290±170	14427±121	12859±550	13668±642	12644±33
Mn	36,1±1,2	50,4±1,9	50,2±2,0	92,0±2,0	38,6±0,8	77,4±0,9
Fe	864±50	518±15	432±11	837±13	889±17	591±16
Ni	5,4±1,2	3,1±0,4	<1	8±1	10±1	6±1
Cu	10,2±0,4	9,3±0,5	6,3±0,6	10,8±0,5	6,5±0,2	12,4±0,8
Zn	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Rb	19,4±0,4	18,6±0,4	6,9±0,5	17,9±0,8	17,2±1,1	17,1±0,3
Sr	76,4±0,4	53,4±0,4	66,6±0,5	65,1±0,1	29,2±0,3	57,3±0,3

Nº de medidas: 4

TABELA 14 - Composição química da espécie

Valeriana officinalis (Valeriana)

<i>Espécie: Valeriana officinalis (Valeriana)</i>						
Elementos	Forma: "in natura"			Forma: cápsula		
	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3
$\mu\text{g.g}^{-1}$						
Na	<50	85±17	56±10	417±32	114±47	2638±89
Mg	3524±16	5266±160	<50	629±113	2687±50	851±26
P	<50	<50	2485±98	2221±119	<50	<50
S	(3773)	(4080)	(642)	(539)	(2457)	(944)
Cl	2013±15	2085±26	609±15	465±16	929±10	98±9
K	(7078)	(8990)	(8900)	(8536)	(4350)	(6651)
Ca	4517±128	6244±28	2651±52	2873±71	3566±96	2395±62
Mn	<5	<5	80,7±2,1	44,5±1,4	<5	<5
Fe	4131±22	5053±24	534±4	1192±9	3075±11	3270±13
Ni	17,9±2,3	28,1±3,5	5,1±0,3	<1	11±1	12±1
Cu	13,1±0,2	18,6±0,4	2,4±0,4	3,3±0,3	7,5±0,4	5,0±0,5
Zn	155±5	<1	<1	<1	<1	<1
Rb	185±3	247,7±4,1	17,5±0,3	32±1	121±2	168±1
Sr	34,5±0,4	44,4±0,4	13,0±0,1	16,3±0,6	25,4±0,2	30,4±0,4

Nº de medidas: 4

TABELA 15 - Composição química da espécie

Echinodorus macrophyllus (Chápeu de couro)

<i>Espécie: Echinodorus macrophyllus (Chápeu de couro)</i>						
Elementos	Forma: "in natura"			Forma: cápsula		
	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3
$\mu\text{g.g}^{-1}$						
Na	<50	166±25	<50	8706±149	<50	851±49
Mg	2200±21	8514±245	3622±208	3970±60	2003±4	<50
P	1941±17	3061±73	4806±79	1549±18	4483±89	<50
S	(2251)	(2814)	(1890)	(3079)	(1597)	(1506)
Cl	10055±125	26723±427	27642±402	27218±217	20069±236	10635±152
K	(18203)	(32447)	(31028)	(30302)	(27464)	(4993)
Ca	6997±50	10811±60	8922±40	10983±89	6963±36	582±2
Mn	772±3	356±7	430±9	135,1±0,5	544±7	0,9±0,4
Fe	308±9	243±4	830±9	1870±9	201±2	8,1±0,6
Ni	<1	<1	<1	<1	<1	2,2±0,2
Cu	2,7±0,2	4,3±0,7	3,5±0,5	6,1±0,1	2,6±0,1	0,3±0,1
Zn	162±6	<1	<1	233,4±5,6	<1	<1
Rb	182±2	35,1±0,4	155±2	161,2±1,3	59,4±0,2	17,9±0,4
Sr	42,5±0,4	147,6±0,7	53,4±0,4	63,9±0,5	40,7±0,3	1,1±0,1

Nº de medidas: 4

TABELA 16 - Composição química das espécies
Paulina cupana (Guaraná) e *Solidago microglossa* (Arnica)

Elementos	<i>Espécie: Paulina cupana (Guaraná)</i>			<i>Espécie: Solidago microglossa (Arnica)</i>		
	Forma: "cápsula"			Forma: "in natura"		
	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3
$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$						
Na	660±1	256±49	198±78	<50	52±26	<50
Mg	<50	<50	<50	1056±22	2000±17	1485±40
P	577±17	744±9	661±13	1266±20	947±13	1066±8
S	(1588)	(1655)	(1493)	(1834)	(2339)	(1966)
Cl	538±10	770±18	296±17	4473±17	8806±30	4102±35
K	(5220)	(4512)	(4363)	(9099)	(10035)	(8948)
Ca	1224±60	1068±30	784±40	6384±173	7574±177	6310±159
Mn	9,6±0,1	14,2±0,3	13,0±0,4	114±2	86,2±0,4	60,5±0,9
Fe	591±9	290±19	438±2	813±3	784±36	435±2
Ni	6,0±1,1	8,4±0,4	6,0±0,6	3,7±0,8	4,5±0,3	2,8±0,9
Cu	4,2±0,1	4,4±0,2	3,9±0,1	7,1±0,1	7,1±0,3	7,5±0,2
Zn	<1	<1	<1	260±4	<1	443±11
Rb	21,8±0,3	21,7±0,2	46,1±0,6	39,4±0,5	108,9±1,6	151,5±0,5
Sr	4,8±0,6	3,7±0,2	3,5±0,3	74,9±0,4	34,7±0,2	119,8±0,4

Nº de medidas: 4

TABELA 17 - Composição química das espécies
Stryphnodendron barbatiman (Barbatimão) e *Calendula officinalis* (Calêndula)

Elementos	<i>Espécie: Stryphnodendron barbatiman</i> (Barbatimão)			<i>Espécie: Calendula officinalis (Calendula)</i>		
	Forma: "in natura"			Forma: "in natura"		
	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3
$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$						
Na	<50	85±53	<50	1943±35	12758±275	11883±260
Mg	<50	<50	<50	5805±184	4056±202	4268±194
P	<50	<50	<50	5805±106	3575±171	4197±169
S	(1361)	(1385)	(1670)	(1466)	(1510)	(845)
Cl	2652±19	2504±17	3560±21	21855±278	21165±482	19632±427
K	(2542)	(2303)	(3660)	(35402)	(32809)	(32731)
Ca	2887±23	1270±14	4054±30	11799±60	9781±168	8570±141
Mn	6,3±0,3	8,1±0,6	9,3±0,4	126±3	29,1±1,4	29,6±0,6
Fe	133,4±2,1	183,3±2,9	92,1±0,5	171±3	2416±22	2318±19
Ni	5,9±0,6	7,4±0,4	2,9±1,2	<1	1,9±0,8	2,3±0,3
Cu	1,1±0,1	1,1±0,1	0,9±0,5	15,4±0,7	11,5±0,1	13,5±0,6
Zn	<1	<1	235±9	34,5±1,5	<1	<1
Rb	8,6±0,2	7,9±0,3	10,1±0,2	107,5±0,6	28,7±0,9	41,1±1,8
Sr	29,2±0,3	20,6±0,2	36,4±0,4	49,5±0,7	79,6±0,9	63,5±0,4

Nº de medidas: 4

TABELA 18 - Composição química das espécies
Malva officinalis (Malva) e *Salvia officinalis* (Salvia)

Elementos	<i>Espécie: Malva officinalis (Malva)</i>			<i>Espécie: Salvia officinalis (Salvia)</i>		
	Forma: "in natura"			Forma: "in natura"		
	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3	Proc. 1	Proc. 2	Proc. 3
$\mu\text{g g}^{-1}$						
Na	<50	<50	<50	<50	<50	<50
Mg	2037±16	1632±116	2638±71	3683±170	2352±26	2850±77
P	660±20	462±45	806±19	126±31	205±8	334±14
S	(2872)	(2843)	(3009)	(3278)	(3393)	(3259)
Cl	5529±53	4920±127	9421±148	1678±61	1610±11	1561±25
K	(9194)	(9559)	(9806)	(7250)	(8655)	(8753)
Ca	5889±127	6128±147	5678±91	11798±292	10429±312	10148±245
Mn	329±2	427±9	783±6	32,4±1,6	27,5±0,5	28,3±0,9
Fe	485±4	751±7	485±6	717±7	561±3	528±4
Ni	1,9±0,6	5,5±0,9	7,2±0,5	2,9±0,2	1,9±0,8	3,1±0,5
Cu	5,7±0,3	5,7±0,2	9,6±0,3	8,5±0,6	7,2±0,3	8,1±0,3
Zn	312±7	<1	3,0±0,5	<1	<1	152±4
Rb	111±1	104±2	64,8±0,5	26,9±0,9	21,1±0,4	29,5±0,6
Sr	41,8±0,3	24,8±1,0	63,9±0,3	13,5±0,4	11,8±0,2	9,5±0,3

Nº de medidas: 4

TABELA 19 - Variação elementar entre diferentes formas amostradas e procedências da espécie
Ginkgo folium (*Ginkgo biloba*)

Elemento $\mu\text{g g}^{-1}$	Forma: "in natura"						Forma: cápsula						
	CV% (Proc 1)	CV% (Proc 2)	CV% (Proc 3)	Média \pm DP (Proc 1, 2 e 3)	CV% (Proc 1)	CV% (Proc 2)	CV% (Proc 3)	Média \pm DP (Proc 1, 2 e 3)	CV% (Proc 1)	CV% (Proc 2)	CV% (Proc 3)	*média \pm DP _g	CV _g %
Na	-	-	-	<50	-	4,7	-	102 \pm 56	-	4,7	-	68 \pm 56	82,3
Mg	2,3	1,8	1,9	6560 \pm 2312	35,2	1,8	3,2	8770 \pm 3537	40,3	1,6	1,6	8033 \pm 1276	35,5
P	4,7	1,6	2,4	3973 \pm 583	14,7	4,0	5,6	2125 \pm 455	21,4	1,8	1,8	2741 \pm 1067	15,9
S	-	-	-	(1820)	-	-	-	(3040)	-	-	-	(2633)	-
Cl	0,7	1,1	1,9	2893 \pm 1337	49,6	4,8	0,4	2597 \pm 448	17,2	1,6	1,6	2629 \pm 56	2,1
K	-	-	-	(12205)	-	-	-	(6628)	-	-	-	(8487)	-
Ca	5,1	1,3	0,8	14359 \pm 1037	7,2	3,8	4,7	13580 \pm 895	6,6	2,6	2,6	13840 \pm 450	3,3
Mn	3,3	3,8	4,0	45,6 \pm 8,2	18,0	1,4	2,1	55,4 \pm 19,9	36,0	1,2	1,2	52,1 \pm 5,7	10,9
Fe	0,6	1,0	2,6	605 \pm 229	37,8	0,4	0,8	772 \pm 159	20,6	1,0	1,0	716 \pm 99	13,5
Ni	22,2	12,9	<1	4,2 \pm 1,6	38,0	12,5	10,0	8 \pm 2	25,0	16,7	16,7	6,4 \pm 2,8	43,7
Cu	3,9	5,4	9,5	8,6 \pm 2,0	23,7	4,6	3,1	9,9 \pm 3,0	30,8	6,4	6,4	9,5 \pm 0,8	8,0
Zn	-	-	-	<1	-	-	-	<1	-	-	-	<1	-
Rb	2,1	2,1	7,2	15 \pm 7	46,8	4,5	6,4	17,4 \pm 0,4	2,5	1,8	1,8	16,6 \pm 1,4	8,5
Sr	0,5	0,7	0,8	65,5 \pm 9,3	14,3	0,2	1,0	50,5 \pm 18,9	37,4	0,5	0,5	55,5 \pm 8,6	15,5

* média \pm DP_g: média e desvio padrão entre as amostras em forma "in natura" e cápsulas



FIGURA 7 – Heterogeneidade das amostras (3 procedências) da espécie *Malva officinalis* (Malva)

TABELA 20 - Variação elementar entre diferentes procedências da espécie *Paulina cupana* (Guaraná). Forma: cápsula

Elementos $\mu\text{g g}^{-1}$	CV% (Proc 1)	CV% (Proc 2)	CV% (Proc 3)	Média \pm DP (Proc 1, 2 e 3)	CV% média
Na	1,5	19,1	39,4	371 \pm 252	67,8
Mg	-	-	-	<50	-
P	2,9	1,2	2,0	661 \pm 84	12,6
S	-	-	-	(1579)	-
Cl	1,9	2,3	5,7	535 \pm 237	44,3
K	-	-	-	(4698)	-
Ca	4,9	2,8	5,1	1025 \pm 223	21,8
Mn	1,0	2,1	3,1	12,3 \pm 2,4	19,5
Fe	1,5	6,6	4,6	440 \pm 151	34,2
Ni	8,3	4,8	10,0	6,8 \pm 1,4	20,4
Cu	2,4	4,5	2,6	4,2 \pm 0,3	6,1
Zn	-	-	-	<1	-
Rb	1,4	1,0	1,3	30 \pm 14	47,0
Sr	12,5	5,4	8,6	4,2 \pm 0,7	17,5

Uma importante anormalidade em variação elementar pode ser observada para a espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro), na forma de cápsulas. A Procedência 3 mostrou uma composição completamente diferente das demais procedências (TABELA 15).

As demais procedências (3 amostras “in natura” e 2 amostras em cápsulas) apresentaram uma variação elementar similar determinada neste trabalho em Na, Mg, P, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Rb e Sr. Para estes elementos foi determinada a média e o desvio padrão, e os seus valores comparados com os da Procedência 3 – cápsula (TABELA 21 e FIGURA 8). Pode ser observada que a Procedência 3 – cápsula apresenta a concentração em Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Rb e Sr de um fator de 2 a 497 vezes menor que a média das 5 procedências; e Na e S apresentaram um conteúdo maior, respectivamente, numa relação de 12/1 e 7/10.

Esta discrepância no conteúdo não pode ser atribuída a heterogeneidade das amostras (“bulk”), indicando que a amostra da Procedência 3-cápsula provavelmente não pertence à espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro).

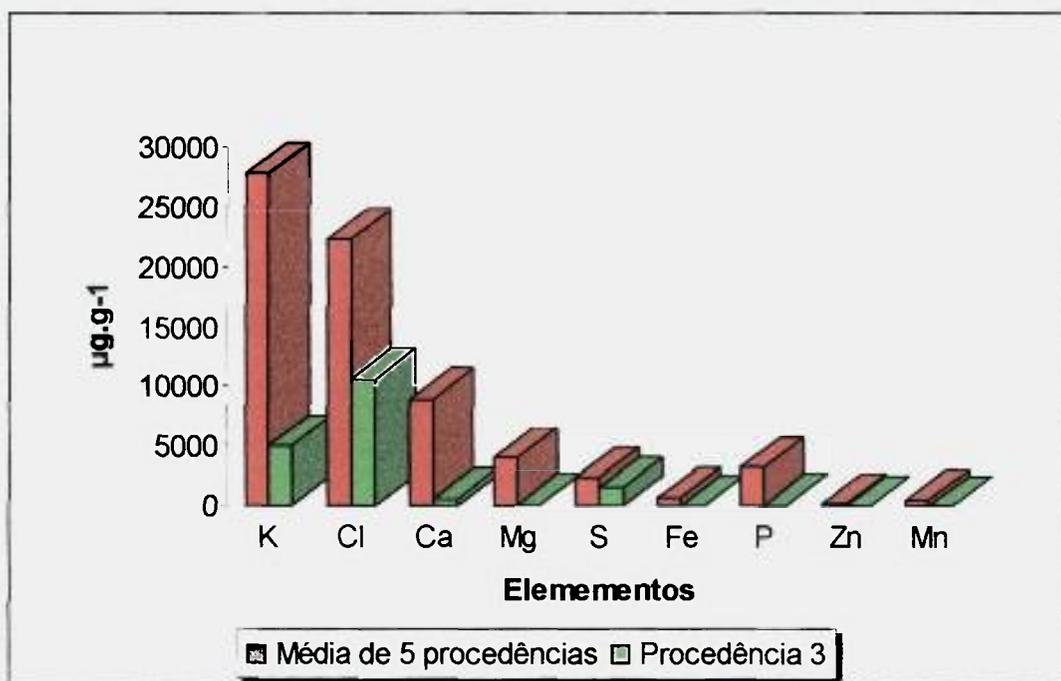


FIGURA 8 – Comparação da composição de K, Cl, Ca, Mg, S, Fe, P, Zn e Mn entre a Procedência 3-cápsula e as demais procedências da espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro).

TABELA 21 - Variação elementar entre diferentes procedências da espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro)

Elementos $\mu\text{g g}^{-1}$	Média \pm DP (Proc 1 + 2 + 3 – "in natura" + Proc 1 + 2 – cápsula)	CV%	Procedência 3 – cápsula	Relação das concentrações (Média e Proc 3 cápsula)
Na	73 \pm 52	70,9	851 \pm 49	12/1
Mg	4062 \pm 2633	64,8	<50	1/81
P	3168 \pm 1462	46,1	<50	1/63
S	(2326)	-	(1506)	7/10
Cl	22234 \pm 7536	33,7	10635 \pm 152	1/2
K	(27889)	-	(4993)	1/6
Ca	8935 \pm 1959	21,9	582 \pm 2	1/56
Mn	448 \pm 235	52,5	0,9 \pm 0,4	1/15
Fe	690 \pm 707	102,3	8,1 \pm 0,6	1/497
Ni	<1	-	2,2 \pm 0,2	1/85
Cu	3,8 \pm 2,4	37,4	0,3 \pm 0,1	1/13
Zn	-	-	<1	-
Rb	119 \pm 66	56,0	17,9 \pm 0,4	1/7
Sr	70 \pm 45	64,0	1,1 \pm 0,1	1/63

3.2.1 – Determinação de perfil inorgânico quantitativo

Apesar da variação da concentração elementar observada nas espécies analisadas, de diferentes procedências, é possível identificar um perfil inorgânico das mesmas. Portanto foi determinada, para todos os elementos, uma média global e desvio padrão envolvendo as diferentes procedências.

Para a espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro) foi considerada a média das 5 procedências (Proc. 1, 2 e 3- "in natura" e Proc. 1 e 2- cápsula, TABELA 22).

Para os elementos abaixo do limite de quantificação (Ex.: Na <50; Zn <1) os valores brutos foram utilizados na obtenção da média e seu respectivo desvio padrão. O Na da espécie *Cordia salicifolia* (Porangaba) não foi considerado na obtenção do perfil inorgânico, pois apresentou valores não conclusivos (<50; 6164 \pm 116; <50; <50; 200 \pm 35; 944 \pm 57 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente para as 6 procedências, TABELA 12). O valor do Zn (34,5 \pm 1,5 $\mu\text{g g}^{-1}$) da Procedência 1 "in natura" não foi incluído no cálculo da média global, pois este apresentou valor muito discordante das demais procedências (<1 $\mu\text{g g}^{-1}$).

A espécie *Valeriana officinalis* (Valeriana) apresentou teores de P e Mn não conclusivos (TABELA 14) e não foram considerados na obtenção do seu

perfil inorgânico (<50; <50; 2485±49; 2221±119; <50; <50 e <5; <5; 80,7±2,1; 44,5±1,4; <5; <5 µg g⁻¹, respectivamente para P e Mn, TABELA 14). Os elementos Mg da Procedência 3 “in natura” (<50 µg g⁻¹) e Zn da Procedência 1 “in natura” (155±5 µg g⁻¹) foram excluídos no cálculo da média global, pois estes apresentaram valores discordantes das demais procedências.

Uma mesma avaliação de exclusão, para perfil inorgânico, foi estendida para os elementos Na e Zn da espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro) por apresentarem valores não conclusivos (TABELA 15).

Na obtenção do perfil inorgânico das espécies *Solidago microglossa* (Arnica), *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão), *Calêndula officinalis* (Calêndula), *Malva officinails* (Malva) e *Salvia officinalis* (Sálvia), o Zn foi excluído por apresentar também valores não conclusivos (TABELAS 16, 17 e 18).

Os resultados da média global e desvio padrão assim determinados, encontram-se relacionados nas TABELAS 22 e 23.

Estas variações elementares podem ser atribuídas a duas principais fontes de incerteza, que são:

- a) número discreto de amostragem (3 a 6 procedências),
- b) heterogeneidade das amostras “bulk”.

Os resultados indicam que para as espécies comercializadas na forma “in natura”, a melhor definição de um perfil inorgânico pode ser obtida a partir de composição química das partes constituintes das plantas. Para as espécies comercializadas em forma de cápsulas se faz necessário um maior número de amostragem, que conduzirá para uma melhor avaliação do conteúdo de certos elementos.

TABELA 22 - Composição de elementos inorgânicos em plantas medicinais (I a V)

Elementos $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Códigos das plantas*				
	I	II	III	IV	V
Na	-	102±56	144±159	-	371±252
Mg	3317±1916	7696±2897	2582±1930	4062±2633	<50
P	722±197	3049±1115	-	3168±1462	661±84
S	(2596)	(2430)	(2072)	(2326)	(1579)
Cl	4132±325	2645±893	1033±831	22341±7537	535±237
K	(13632)	(9416)	(7418)	(27889)	(4698)
Ca	10505±5180	13708±1028	3708±1459	8935±1959	1025±223
Mn	921±762	57±22	-	448±235	12,3±2,4
Fe	300±153	691±200	2881±1723	690±706	440±151
Ni	2,3±2,0	6,8±2,9	14,8±8,7	<1	6,8±1,4
Cu	11,7±4,0	9,3±2,5	8,3±6,3	3,8±1,4	4,0±0,3
Zn	<1	<1	<1	<1	<1
Rb	70±28	16,5±4,6	129±90	119±66	30±14
Sr	134±45	58±16	27±12	70±45	4,2±0,7

*Códigos: I *Cordia salicifolia* (Porangaba); II *Ginkgo folium* (Ginkgo biloba); III *Valeriana officinalis* (Valeriana); IV *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de Couro); V *Paulina cupana* (Guaraná)

TABELA 23 – Composição de elementos inorgânicos em plantas medicinais (VI a X)

Elementos $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Códigos das plantas *				
	VI	VII	VIII	IX	X
Na	<50	62±24	8861±6007	<50	<50
Mg	1514±473	<50	4710±954	2102±506	2962±672
P	1093±161	<50	4526±1151	643±173	222±105
S	(2046)	(1472)	(1274)	(2908)	(3310)
Cl	5794±2615	2905±572	20884±1138	6623±2442	1616±59
K	(9361)	(2835)	(33647)	(9520)	(8219)
Ca	6756±709	2737±1398	10050±1631	5898±225	10792±883
Mn	87±27	7,9±1,5	62±56	513±239	29,4±2,6
Fe	677±210	136±46	1635±1269	574±154	602±101
Ni	3,7±0,9	5,4±2,3	1,7±0,7	4,9±2,7	2,6±0,6
Cu	7,1±0,1	1,03±0,12	13,5±2,0	7,0±2,3	7,9±0,7
Zn	-	-	-	-	-
Rb	100±57	8,9±1,1	59±42	93±25	26±4
Sr	76±43	29±8	64±15	44±20	12±2

* Códigos: VI *Solidago microglossa* (Arnica); VII *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão); VIII *Calendula officinalis* (Calêndula); IX *Malva officinalis* (Malva); X *Salvia officinalis* (Salvia)

Os resultados da TABELA 22 e 23 mostram que o Mg, S, Cl, K e Ca são elementos maiores para todas as espécies estudadas, excetuando-o Mg e Cl para a espécie *Paulina cupana* (Guaraná).

O P é elemento constituinte para a maioria das espécies, exceto para *Valeriana officinalis* (Valeriana), *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão), *Malva officinalis* (Malva) e *Salvia officinalis* (Sálvia).

O Fe apresentou-se como elemento constituinte ($2881 \pm 1723 \mu\text{g g}^{-1}$) para as espécies *Ginkgo folium* e para a *Calendula officinalis* ($1635 \pm 1269 \mu\text{g g}^{-1}$). Para todas as demais espécies seu conteúdo variou entre 136 a $690 \mu\text{g g}^{-1}$.

O Mn apresentou-se como elemento constituinte, somente, para a espécie *Cordia salicifolia* ($921 \pm 337 \mu\text{g g}^{-1}$); e o Na para a espécie *Calendula officinalis* ($8861 \pm 6007 \mu\text{g g}^{-1}$).

Os elementos Ni, Cu, Zn, Rb e Sr encontram-se presentes como elementos traço nas espécies estudadas (10 a $100 \mu\text{g g}^{-1}$).

Para melhor visualização, perfis inorgânicos individuais das espécies são apresentados nas FIGURAS 9 a 18.

Os resultados obtidos demonstram a definição de perfis inorgânicos para as plantas medicinais, uma vez que a sua composição química apresenta-se de forma distinta quali e quantitativamente.

Pela facilidade e rapidez na obtenção dos resultados, estes perfis inorgânicos são recursos adicionais, que conjuntamente com a determinação de compostos fármaco ativos, podem ser utilizados para a identificação das espécies consumidas para fins terapêuticos.

Usualmente, a determinação de princípios ativos em plantas medicinais é um ensaio demorado e complexo, uma vez que uma planta medicinal apresenta vários compostos com princípios ativos, diferentemente de um medicamento alopático onde a identificação baseia-se somente na determinação de 1 ou 2 compostos.

Ainda, os perfis inorgânicos podem identificar, rapidamente, as anormalidades, como foi constatado para a espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro), dentro de um número de amostragem muito pequena (TABELA 15), demonstrando que o perfil inorgânico é um recurso valioso a ser utilizado num sistema de vigilância sanitária.

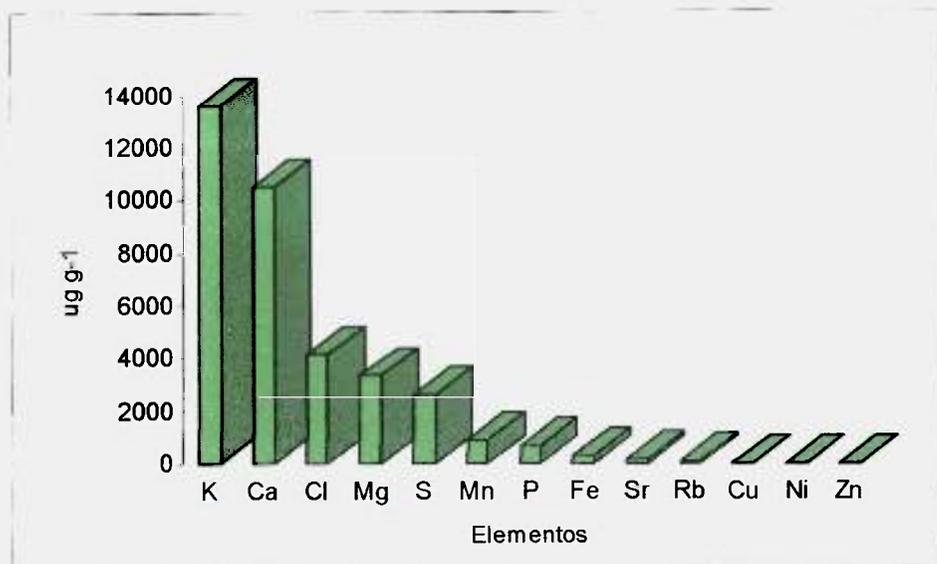


FIGURA 9 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Cordia Salicifolia* (Porangaba)

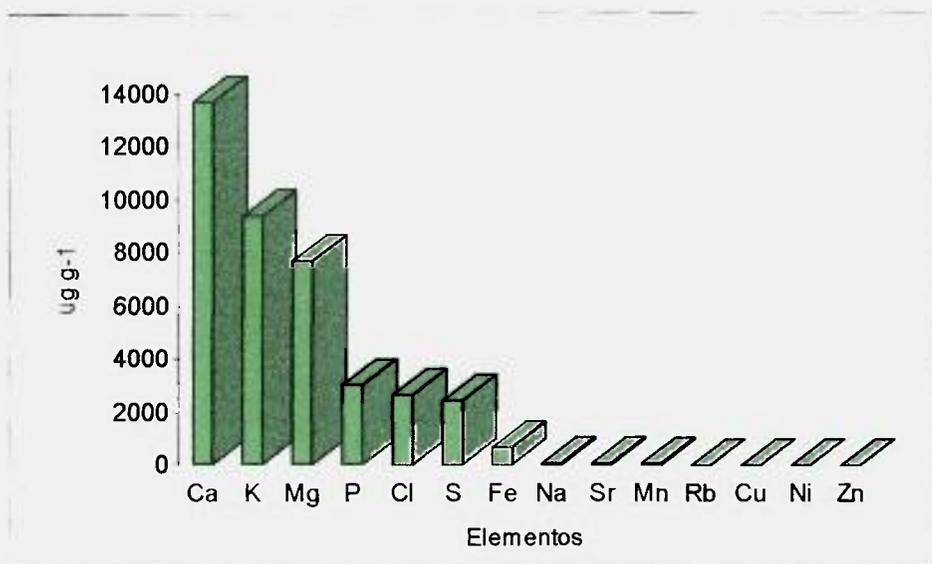


FIGURA 10 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Ginkgo folium* (Ginkgo biloba)

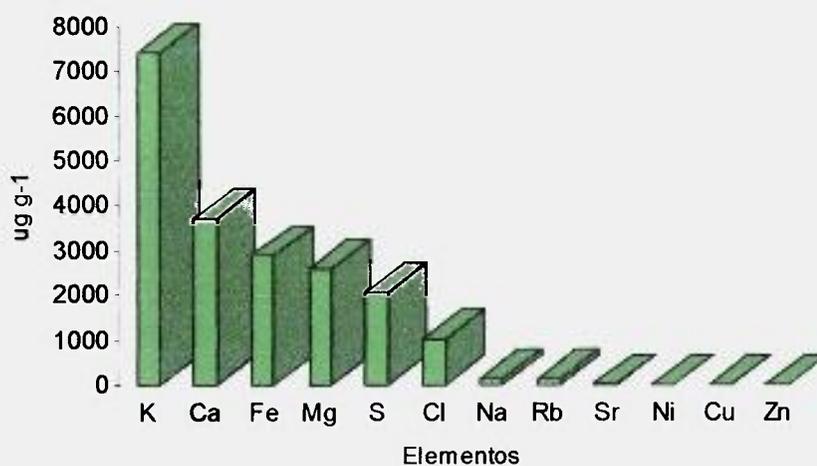


FIGURA 11 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Valeriana officinalis* (Valeriana)

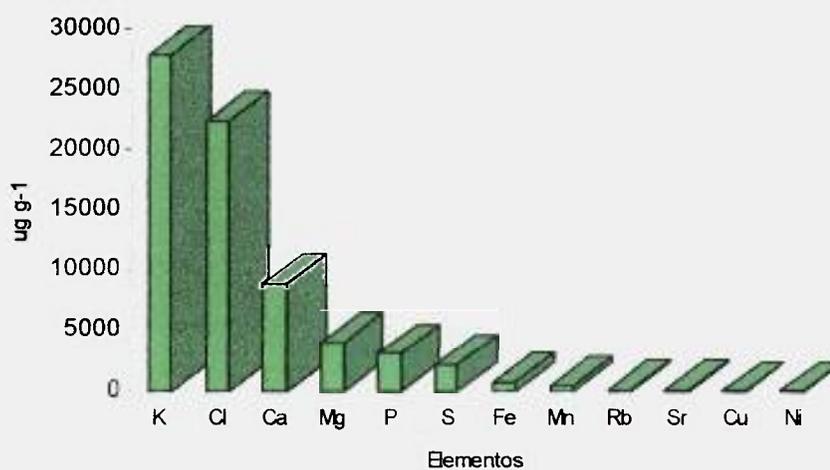


FIGURA 12 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro)

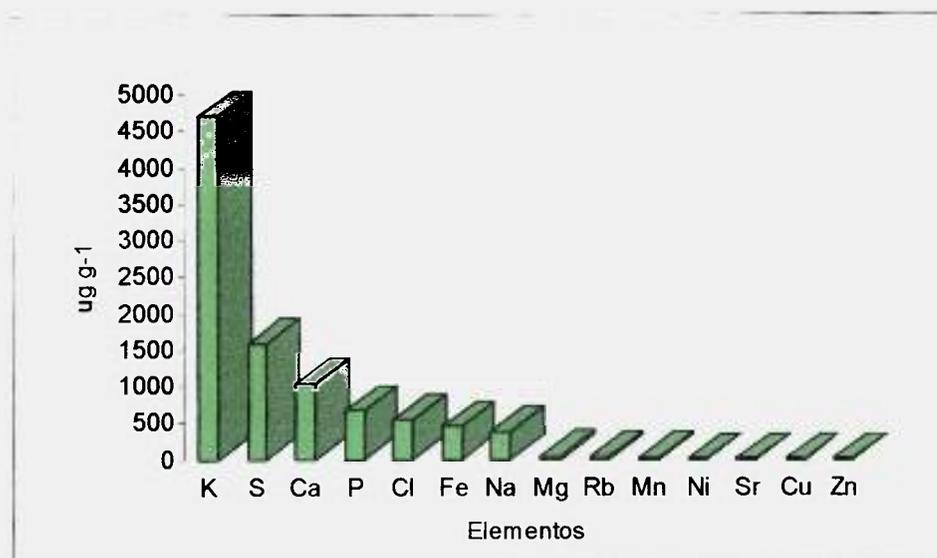


FIGURA 13 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Paulina cupana* (Guaraná)

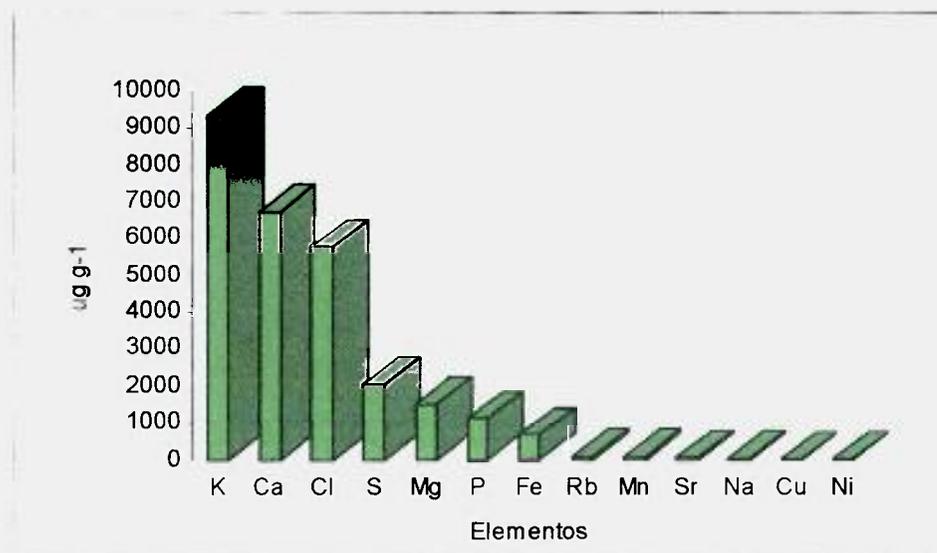


FIGURA 14 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Solidago microglossa* (Arnica)

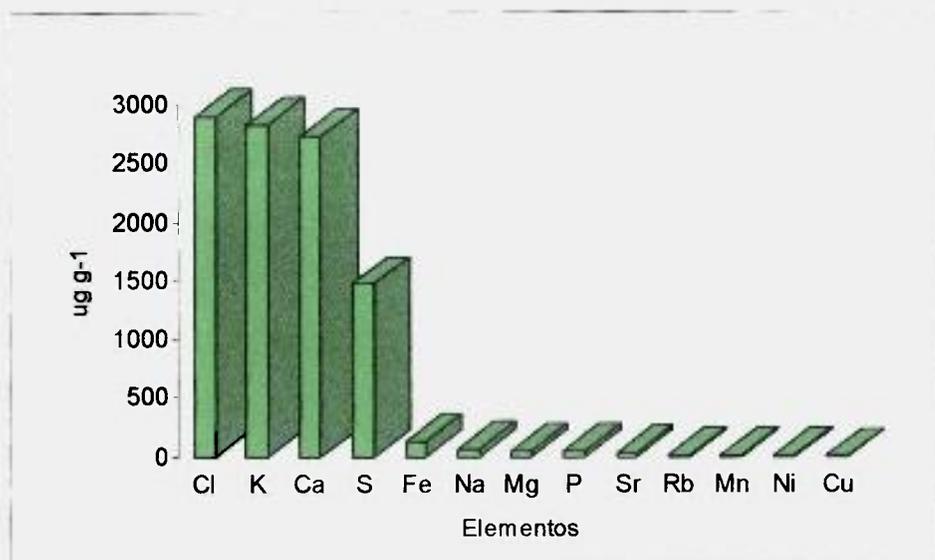


FIGURA 15 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão)

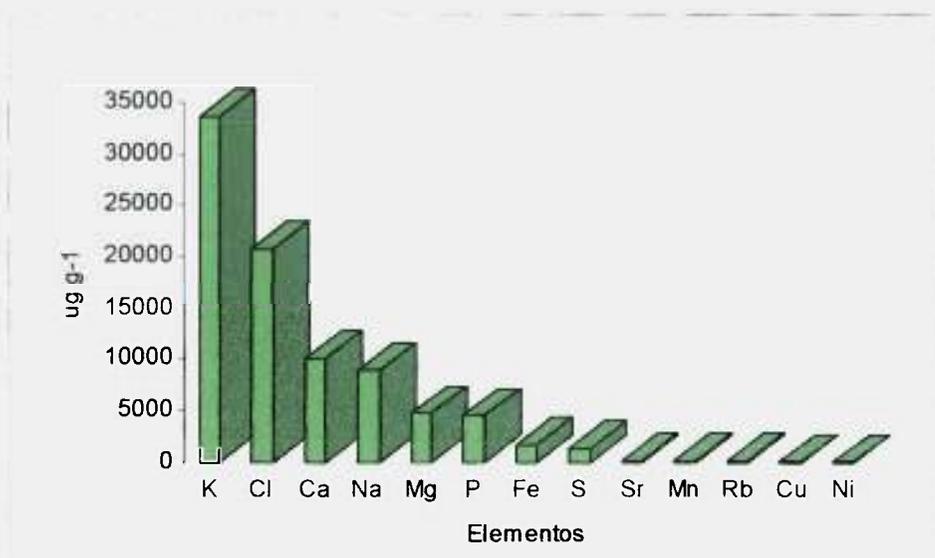


FIGURA 16 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Calendula officinalis* (Calêndula)

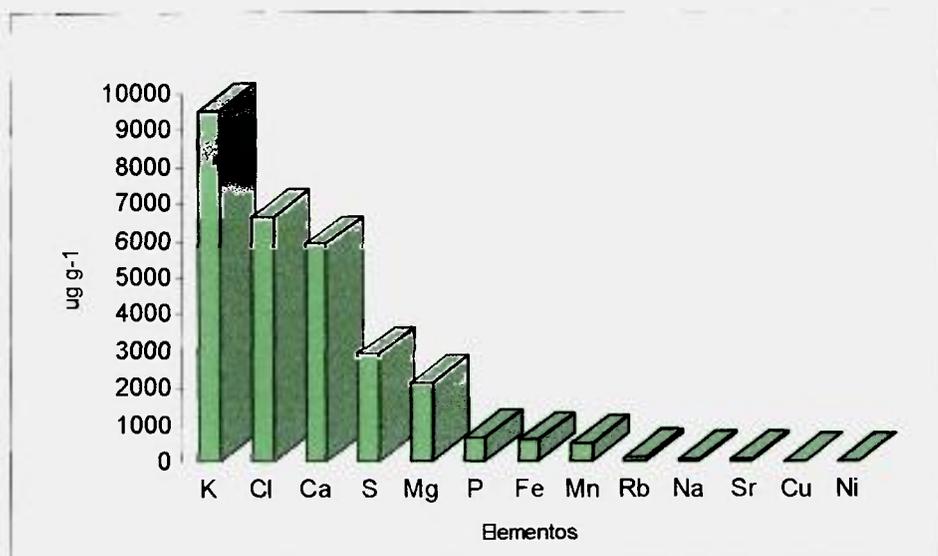


FIGURA 17 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Malva officinalis* (Malva)

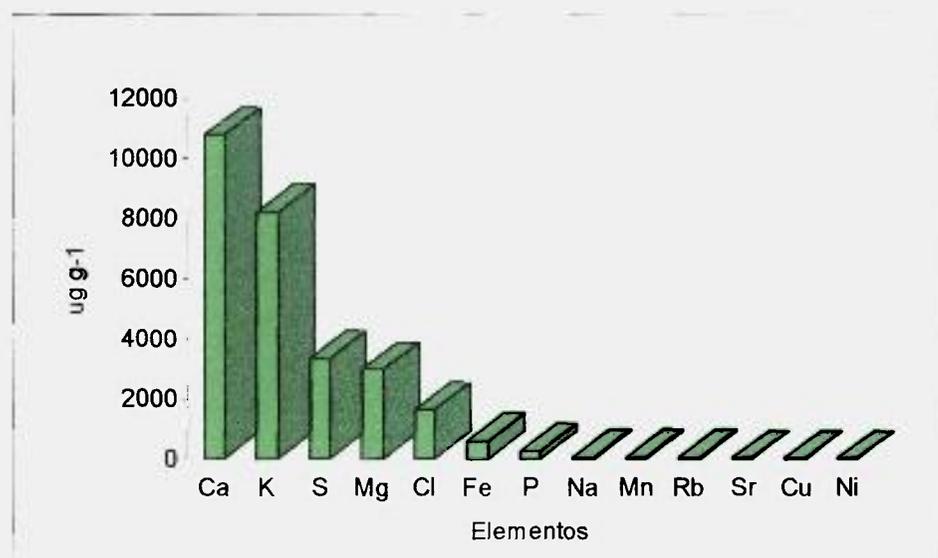


FIGURA 18 – Perfil inorgânico quantitativo da espécie *Salvia officinalis* (Salvia)

3.3 – Determinação de composição inorgânica em partes constituintes (caule, folha, flor e semente).

Na comprovação de que as espécies concentram os componentes inorgânicos de forma diferenciada em suas partes constituintes, foi realizada a determinação dos mesmos elementos (Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr) nas espécies *Calendula officinalis* (Calêndula), *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro), *Arnica montana* (Arnica) e *Schinus molle* (Aroeira).

A partir da curva de sensibilidade obtida no espectrômetro de fluorescência de raios X por dispersão de energia (SHIMADZU Co., modelo EDX900) foi determinada a composição inorgânica das partes constituintes caule, folha, flor-pétala e semente (TABELA 5) das espécies relacionadas.

A curva de sensibilidade, obtida neste trabalho, não apresentou uma boa exatidão para os elementos Ni, Zn, Rb e Sr (Valores de Z-score: -8,0; 5,0; -5,0; -7,0, FIGURA 6). Portanto, seus valores foram avaliados como valores indicativos, bem como o S, cujo valor no CRM NIST 1547 é indicativo.

Os resultados encontram-se relacionados nas TABELAS 24 e 25, e os perfis inorgânicos nas FIGURAS 19 a 22.

TABELA 24 – Composição inorgânica das partes constituintes das espécies *Calendula officinalis* (Calêndula) e *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro)

Elemento	<i>Calendula officinalis</i> (<i>Calêndula</i>)		<i>Echinodorus macrophyllus</i> (<i>Chapéu de Couro</i>)		
	Folha	Pétala	Caule	Folha	Semente
$\mu\text{g.g}^{-1}$					
Na	4182±739	3760±795	2966±594	3148±531	3455±566
Mg	3004±688	2410±527	1723±329	7742±939	4590±787
P	6488±187	607±34	2995±180	3143±81	8055±222
S	(1299)	(585)	(450)	(1357)	(917)
Cl	9209±135	5816±159	11551±423	8929±275	9020±266
K	37736±627	21324±496	37511±1335	13430±274	50446±1369
Ca	7497±147	1921±53	2897±109	4004±67	4478±144
Mn	56±4	17±2	107±14	118±12	121±16
Fe	109±5	36±12	284±26	36,2±4,3	1362±36
Ni	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Cu	10,2±3,1	2,0±0,6	6,1±1,9	3,8±1,0	1,9±0,5
Zn	(56)	(6)	(21)	(15)	(49)
Rb	(43)	(5)	(16)	(6)	(61)
Sr	(38)	(3)	(12)	(9)	(20)

TABELA 25 – Composição inorgânica das partes constituintes das espécies *Arnica montana* (Arnica) e *Schinus molle* (Aroeira)

Elemento	<i>Arnica montana</i> (<i>Arnica</i>)			<i>Schinus molle</i> (<i>Aroeira</i>)		
	Caule	Folha	Pétala	Caule	Folha	Semente
$\mu\text{g.g}^{-1}$						
Na	< 50	5377±522	4,0±1,0	< 50	< 50	< 50
Mg	2396±370	2500±551	602±130	1593±267	3258±528	1329±329
P	509±40	1307±38	615±31	745±21	1032±61	1870±59
S	(375)	(765)	(536)	(595)	(1919)	(993)
Cl	2441±96	1400±175	1956±119	365±27	1923±96	1328±139
K	4083±97	14806±88	10125±64	4387±90	6102±108	11854±454
Ca	3097±45	8136±74	1747±50	5882±45	2863±56	1731±60
Mn	249±30	63±13	17,9±2,6	20,9±2,5	25,4±4,1	24,2±2,8
Fe	2064±33	3,8±1,3	35,1±0,9	180±4	20,7±1,4	82±3
Ni	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
Cu	1,7±0,7	2,7±0,6	< 1,0	3,3±0,2	1,5±0,3	2,8±0,8
Zn	(7)	(17)	(8)	(8)	(11)	(18)
Rb	(6)	(6)	(6)	(4)	(4)	(12)
Sr	(14)	(24)	(8)	(290)	(7)	(18)

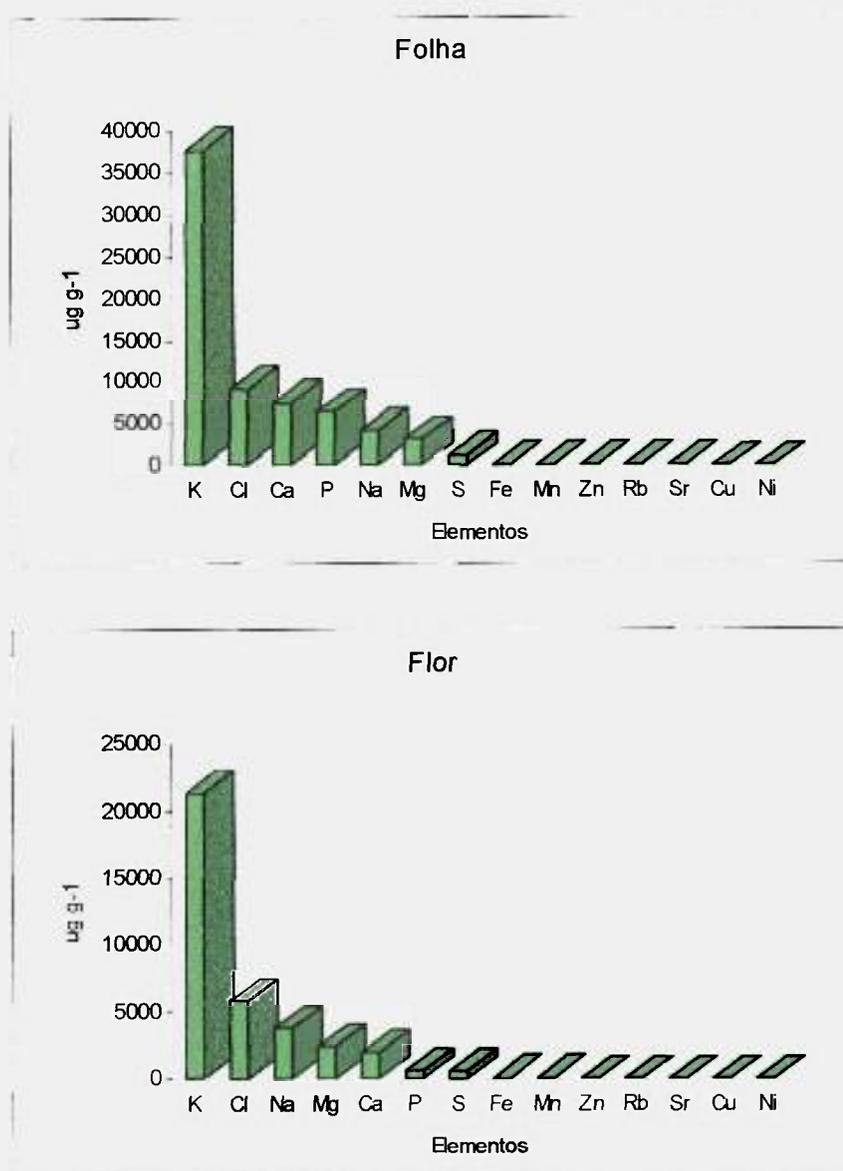


FIGURA 19 – Composição química de folha e pétala da espécie *Calendula officinalis* (Calêndula).

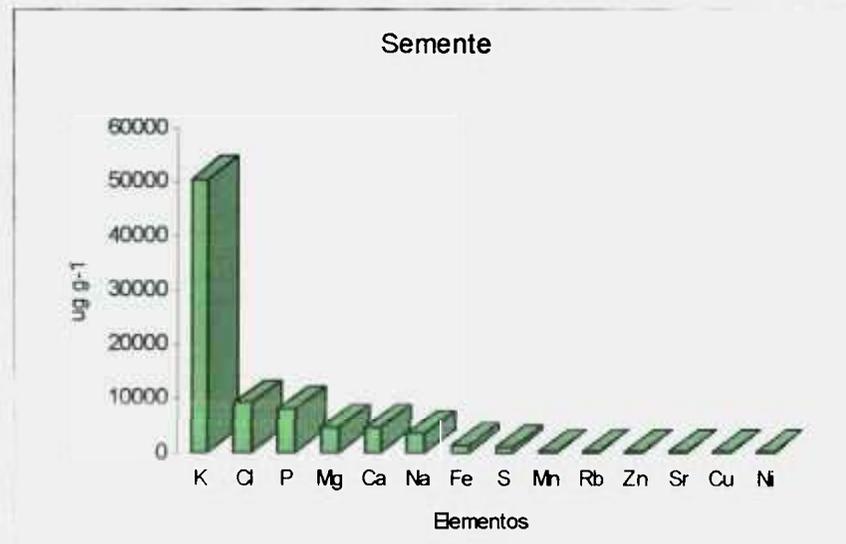
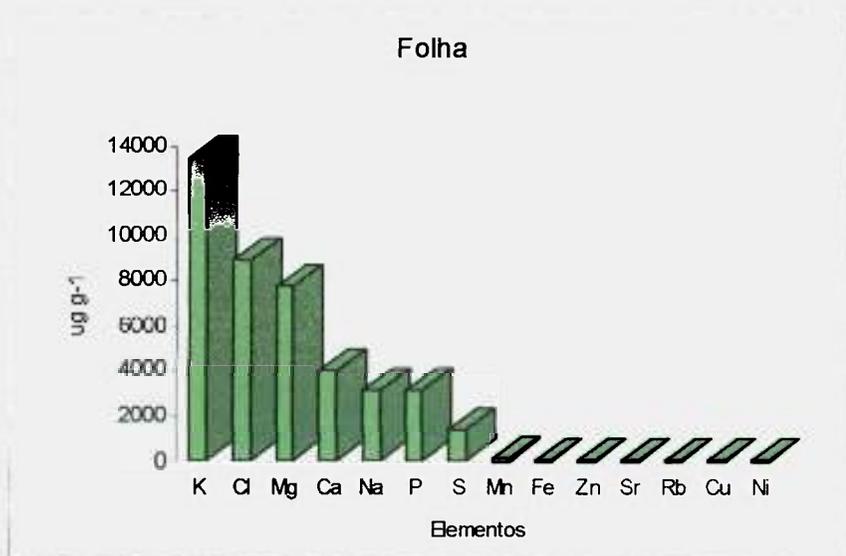
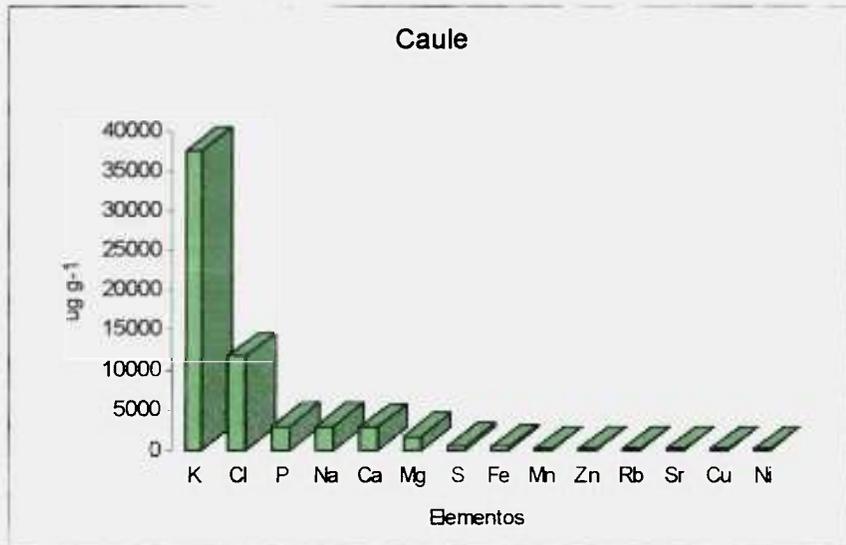


FIGURA 20 – Composição química de caule, folha e semente da espécie *Echinodoros macrophyllus* (Chapéu de couro).

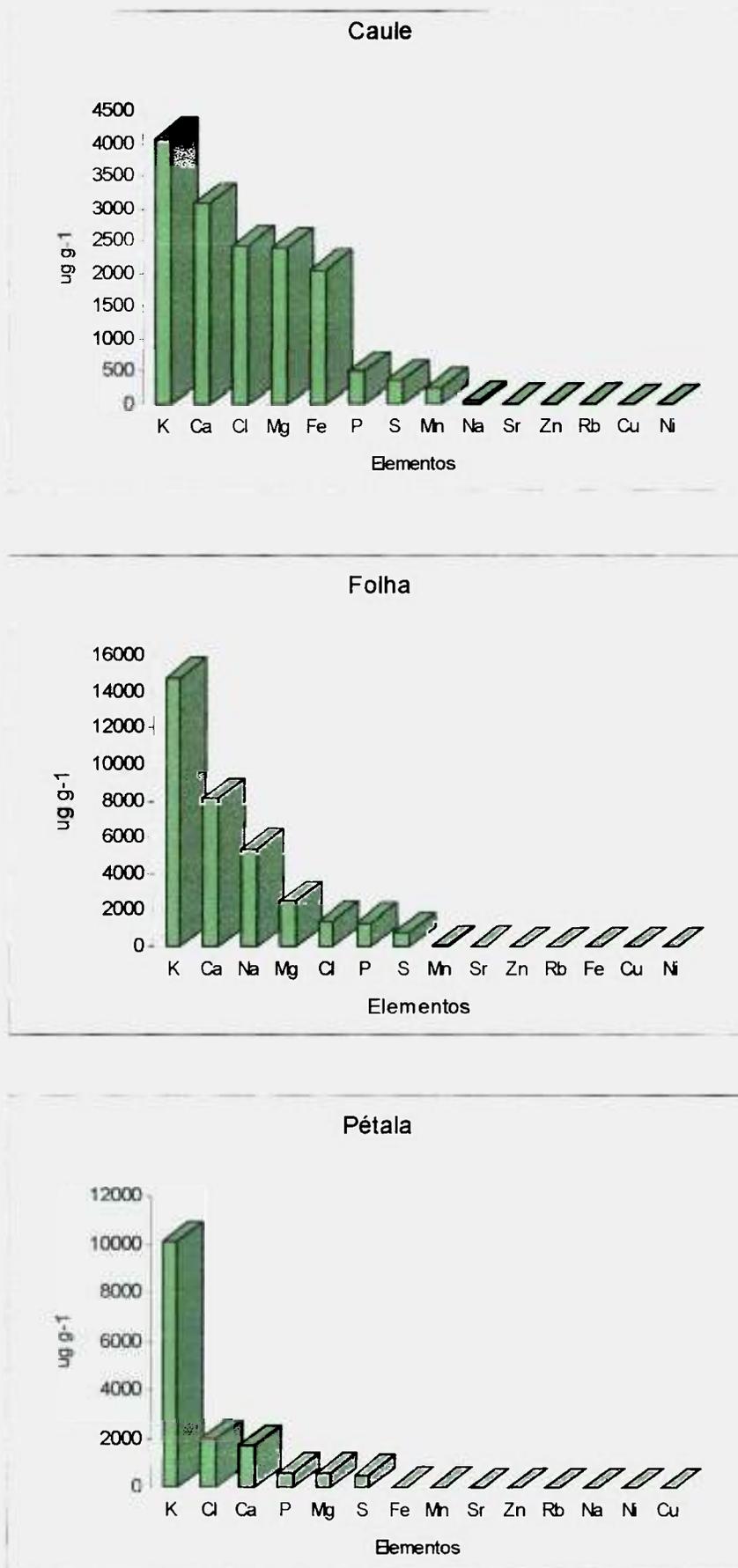


FIGURA 21 Composição química de caule, folha e pétala da espécie *Arnica montana* (Arnica)

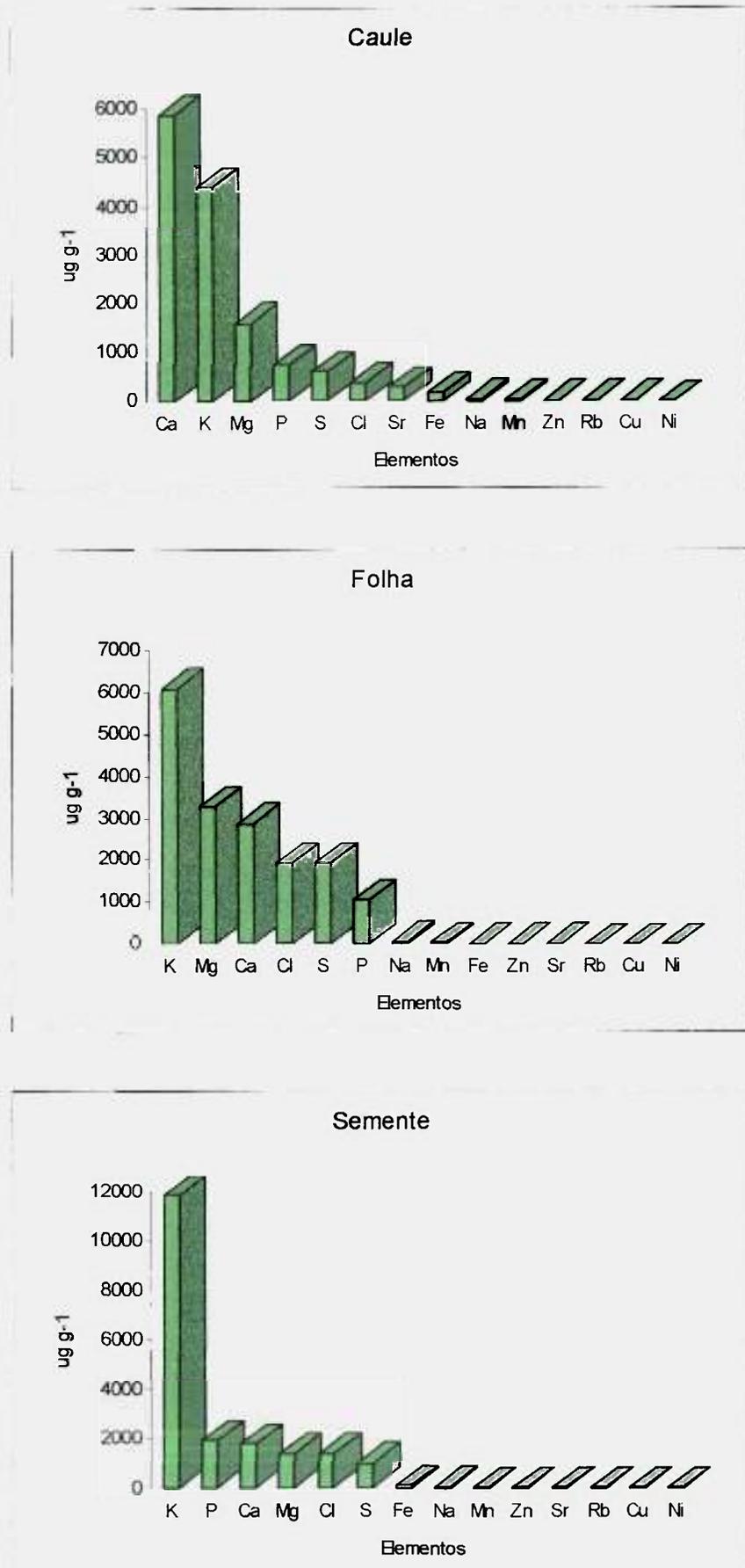


FIGURA 22 Composição química de caule, folha e semente da espécie *Schinus molle* (Aroeira).

Os resultados indicam que as folhas e flores (pétalas) da espécie *Calendula officinalis* (Calêndula) apresentam uma variação elementar. Todos os elementos mostraram um conteúdo maior nas folhas, da ordem de 10 a 300% (TABELA 19). Pode ser observada, também, uma distribuição elementar diferenciada para os elementos constituintes, a saber:

K>Cl>Ca>P>Na>Mg para folha e

K>Cl>Na>Mg>Ca>P para flor

A espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro) apresentou o mesmo comportamento observado na espécie *Calendula officinalis* (Calêndula), i.é, distribuição diferenciada em conteúdo e elementos químicos em partes constituintes analisadas (caule, folha e semente). Verifica-se que a K e Cl são os constituintes maiores nas partes analisadas, mas um conteúdo bem maior em K é observado nas sementes do que em caules e folhas (50446 , 37511 e $13430 \mu\text{g g}^{-1}$). Sob uma ótica quantitativa, a espécie concentra os elementos Na, P, K, Ca, Mn, Fe, Zn, Rb e Sr nas sementes, e os elementos Mg e S nas folhas e Cl e Cu nos caules.

A espécie *Arnica montana* (Arnica) concentra os elementos como Na, Mg, P, S, K e Ca nas folhas e os elementos Cl, Mn e Fe no caule. O Fe encontra-se como elemento constituinte ($2064 \pm 33 \mu\text{g g}^{-1}$) no caule, ao passo que nas folhas e flores encontra-se como elemento traço, respectivamente, $3,8 \pm 1,3$ e $35,1 \pm 0,9 \mu\text{g g}^{-1}$. Os elementos Mn, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr encontram-se presentes como elementos traço.

A espécie *Schinus molle* (Aroeira) apresentou os elementos Mg, P, S, Cl, K e Ca como elementos maiores para as partes estudadas (caule, folha e semente). Uma concentração maior dos elementos Mg, S e Cl é observada nas folhas, e P e K nas sementes. Os elementos Na, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr encontram-se presentes como elementos traço ($< 200 \mu\text{g g}^{-1}$).

Esta distribuição não uniforme de elementos em partes das plantas medicinais comprova a grande variação elementar observada entre as diferentes procedências, uma vez que as amostras globais não são uniformizadas comercialmente.

A determinação de composição inorgânica em partes constituintes das plantas pode auxiliar na identificação de parte da planta com maior ação terapêutica.

A associação dos elementos químicos com ações terapêuticas pode ser observada em algumas das espécies estudadas como:

- A espécie *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro) é indicado como diurético e para tratamento de afecções de vias aéreas, como amigdalite. A espécie apresentou maior conteúdo de K e Cl entre as espécies estudadas.
- A espécie *Valeriana officinalis* (Valeriana) possui indicação terapêutica para insônias. O alto teor de Fe ($2881 \pm 1723 \mu\text{g g}^{-1}$) encontrado na espécie pode indicar a melhoria na circulação sanguínea.
- As espécies *Calendula officinalis* (Calêndula) e *Malva officinalis* (Malva) são utilizadas como anti-sépticas e cicatrizantes. As duas espécies apresentaram maior concentração de Cl em relação às demais espécies estudadas.
- A espécie *Schinus molle* (Aroeira) além da indicação terapêutica para febre e tumores, a semente é muito utilizada na culinária produzindo um leve ardor característico, que pode estar relacionado com a alta concentração de K.
- A espécie *Ginkgo folium* (Ginkgo) é indicado para estresse e cansaço. A alta concentração de Ca e P em relação às demais espécies estudadas, pode indicar estas ações terapêuticas.

4 - CONCLUSÕES

No sistema WDXRF, as correções matriciais introduzidas nas curvas de calibração mostraram-se adequadas, demonstrando a validade do método para determinação de elementos Na, Mg, P, S, Cl, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr, exceto para o K.

No sistema EDXRF, o método de Parâmetros Fundamentais demonstrou a validade do método na determinação de elementos Na, Mg, P, S, Cl, Ca, Mn, Fe e Cu, exceto para os elementos Ni, Zn, Rb e Sr. A sua grande versatilidade consiste na capacidade de analisar pequenas amostras bem menores que a técnica de WDXRF (1 mm de diâmetro).

O estabelecimento de perfis inorgânicos das plantas medicinais contribui na ratificação das espécies, na avaliação da qualidade do produto e na identificação das partes constituintes com maiores ações terapêuticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 PRANCE, G. T. Floristic inventory of the tropics: where do we stand? ***Annals of the Missouri Botanical Garden.***, v. 64, p. 559-684, 1977
- 2 GIULIETTI, A.; FORERO, E. Diversidade taxonômica e padrões de distribuição das angiospermas brasileiras. ***Acta Botanica Brasilica***, v. 4, p. 3-10, 1990
- 3 LAPA, A. J. Bioprospecção no Brasil: abordagens alternativas para fabricação de medicamentos autóctones. EPM-USP
www.universiabrasil.net/nextwave/ver_materia.jsp?materia=86&subcanal=13, 15/06/2004
- 4 IUCN ***Guidelines on the conservation of medicinal plants***. IUCN, WHO and WWF, Gland, Switzerland, 1993
- 5 AMERICAN BOTANICAL COUNCIL. Herbs and Phytomedicines in the European Community.
www.herbalgram.org/default.asp?c=ceherbsineurope 15/06/2004
- 6 FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO. Plantas medicinais: mercado desorganizado mas promissor. ***Anuário Agrianual***, 1999, p. 52-57, 1999
- 7 CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). ***Brazilian Journal of Medical and Biological Research***, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000
- 8 MARCON, M.C.(s.d.) Plantas medicinais, produto não madeireiro potencialmente econômico. IBAMA, SP
- 9 REDDY, S. J.; MAUERHOFER, E.; PORTE, N., DAMODAR, J.; DENSCHLAG, H. O. Determination of elemental levels in medicinally important Indian leaves by instrumental neutron activation analysis. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 128, p. 83-89, 1998

-
- 10 UNDERWOOD, E. J. **Methodology of Trace Elements Research**, Trace elements in human and animal nutrition. New York, Academic Press, 1977
- 11 SANDERS, H. J. The News Journal of Nutrition and Health. **Chemical Engineering**, v. 57, p. 27-47, 1979
- 12 FURLANI, P. R. Elementos Tóxicos, Palestra, Esalq USP, <http://www.solos.esalq.usp.br/Palestra3.pdf> 10/12/2004
- 13 WONG, M. K.; TAN, P.; WEE, Y. C. Heavy metals in some Chinese herbal plants. **Biological Trace Elements Research**, v. 36, p. 135-142, 1993
- 14 RAZIC, S. ONJIA, A. POTKONJAK, B. Trace elements analysis of *Echinacea purpurea*--herbal medicinal. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 33, n. 4, p. 845-850, 2003
- 15 REMIGIUS, C.; HANNELIESE, M.; CHLODWIG, F. Monitoring of metallic micronutrients and heavy metals in herbs, spices and medicinal plants from Austria. **European Food Research and Technology**, v. 216, n. 5, p. 407-411, 2003
- 16 RAJURKAR, N. S.; DAMAME, M. M. Elemental analysis of some herbal plants used in the treatment of cardiovascular diseases by NAA and AAS **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 219, n. 1, p. 77 - 80, 1997
- 17 SAIKI, M.; VASCONCELLOS, M. B. A.; SERTIE, J. A. A. Determination of inorganic components in Brazilian medicinal plants by neutron activation analysis. **Biological Trace Elements Research**, v. 26, n. 7, p. 743-750, 1990
- 18 LA, D.; FUNTUA, A. O.; OYEWALE, F.; GRASS, I. M. Determination of some elements in *Ageratum conyzoides*, a tropical medicinal plant, using instrumental neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 261, n. 1, p. 225-228, 2004

-
- 19 SVICEKOVA, M.; HAVRANEK, E. Determination of heavy-metals in samples of plant drugs by differential-pulse polarography. *Pharmazie*, v. 50, n. 4, p. 302-308, 1995
- 20 SONG, J. F.; HE, Y. Y.; GUO, W. Polarographic determination of berberine in the presence of H₂O₂ in medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 15; n. 2, p. 355-363, 2002
- 21 BETTINELLI, M. BEONE, G. M.; BAFFI, C.; SPEZIA, S.; NASSISI, A. Characterization of environmental samples in an ophiolitic area of Northern Italy using ICP-OES, ICP-MS and XRF. *Atomic Spectroscopy*, v. 24, n. 5, p. 159-168, 2003
- 22 CHAN, Y. Y. CHUN-LAP, S. Analysis of Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*) using dynamic reaction cell ICP-MS and ICP-AES. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 18, n. 2, p. 146-150, 2003
- 23 OSAE, E. K. Activation analysis of some essential elements in five medicinal plants used in Ghana. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 250, n. 1, p. 173-176, 2001
- 24 OMOTE, J.; KOHNO, H.; TODA, K. X-ray fluorescence analysis utilizing the fundamental parameter method for the determination of the elemental composition in plant samples. *Analytical Chimica Acta*, v. 307, p. 117-126, 1995
- 25 FERREIRA, M. O. M.; SATO, I. M.; SALVADOR, V. L. R. X-ray fluorescence technique applied to major and trace elements determination in Brazilian medicinal plants In: INTERNATIONAL MEETING on RADIATION PROCESSING 2003. Proceedings IMRP2003, 7-12, September 2003, Chicago, USA

-
- 26 EKINCI, N.; EKINCI, R.; POLAT, R.; BUDAK, G. Analysis of trace elements in medicinal plants with energy dispersive X-ray fluorescence. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 260, n. 1, p. 127-131, 2004
- 27 WILLIMS, K. L. *Introduction to X-ray Spectrometry*. London, Allen & Unwin, 1987
- 28 JENKINS, R. *X-ray Fluorescence Spectrometry*. New York, Wiley Interscience, 1988
- 29 LACHANCE, G. R. O.; CLAISSE, F. *Quantitative X-ray Fluorescence Analysis. Theory and Application*. New York, John Wiley & Sons, 1995
- 30 HUTTON, J. T.; NORRISH, K. Plant analysis by X-ray spectrometry, elements of atomic number less than 20. *X-Ray Spectrometry*, v 6, p. 12-17, 1977
- 31 NIELSEN, K. K. Mineral concentrations and variation in fast-food samples analysed by X-ray fluorescence. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 39, p. 887-892, 1991
- 32 RUIZ, R. E. L.; OLSINA, R. A.; MAIS, A. N. Different analytical methodologies for the preconcentration and determination of trace chromium by XRF in medicinal herbs with effects on metabolism. *X-Ray Spectrometry*, v. 31, p. 150-153, 2002
- 33 FERREIRA, M. O. M.; SATO, I. M.; SALVADOR, V. L. R. Inorganic profile of some Brazilian medicinal plants obtained from ethanolic extract and *in natura* samples In: AMERICAS NUCLEAR ENERGY SYMPOSIUM, Proceedings ANES 2004, 4 - 6, October, 2004, Miami, USA
- 34 OBIJUNWA, E. I.; ADEBAJO, A. C.; OMOBUWAJO, O. R. Essential and trace element content of some Nigerian medicinal plants. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 252, p. 473-476, 2002

-
- 35 SALVADOR, M. J.; LOPES, G. N.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; ZUCCHI, O. L. A. D. Quality control of commercial tea by x-ray fluorescence *X-Ray Spectrometry*, v. 31, p. 141-144, 2002
- 36 SILVA, S. R.; BUITRÓN, X.; OLIVEIRA, L. H.; MARTINS, M. V. M. Plantas medicinais do Brasil: Aspectos gerais sobre legislação e comércio. *World Wildlife Fund (WWF) and TRAFFIC*, 2002
- 37 ESTRELLA, E. Plantas medicinales amazónicas: realidad y perspectivas. Tratado de cooperación amazônica. *TCA. Secretaria Pro Tempore*, Lima, 1995
- 38 MARTINS, R. C. Plantas medicinais e aromáticas. *III Relatório Interno. IBAMA/PNUD*, p. 49-52, 2001
- 39 BRANDÃO, M. G; FREIRE, N.; SOARES, C. V. Surveillance of phytotherapeutic drugs in the State of Minas Gerais. Quality assessment of commercial samples of Chamomile. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 11, p. 613-616, 1998
- 40 WORD HEALTH ORGANIZATION (WHO). General standard for contaminants and toxins in foods. The Netherlands: *Codex Alimentarius Commission*, 1994.
- 41 SALVADOR, V. L. R. *Introdução à Técnica de Espectrometria de Fluorescência de Raios X*, Rigaku Co., 2004
- 42 TERTIAN, R.; CLAISSE, F. *Principles of quantitative X-ray Fluorescence Analysis*. Heyden, 1991
43. ANJOS, M. J; LOPES, R. T.; JESUS, E. F. O.; SIMABUCO, S. M.; CESAREO, R. Quantitative determination of metals in radish using X-ray fluorescence spectrometry. *X-Ray Spectrometry*, v. 31, n.2, p. 120-123, 2002

-
- 44 SALVADOR, M. J.; LOPES, G. N.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; ZUCCHI, O. L. A. D. Quality control of commercial tea by x-ray fluorescence. *X-ray Spectrometry*, v. 31, n. 2, p. 141 – 144, 2002
- 45 MOHANTA, B.; CHACKABORT, A. Elemental profile in some common medicinal plants of India. Its correlation with traditional therapeutic usage. *Journal of Analytical Chemistry*, v. 58, n. 9, p. 856-861, 2003
- 46 CHUPARINA, E. V.; GUNICHEVA, T. N. Nondestructive X-ray fluorescence determination of some elements in plant materials. *Journal of Analytical Chemistry*, v. 56, n. 2, p. 131-136, 2001
- 47 BAMFORD, S. A.; WEGRZYNEK, D.; CHINEA-CANO, E.; MARKOWICZ, A. Application of X-ray fluorescence techniques for the determination of hazardous and essential trace elements in environmental and biological materials. *Nukleonika*, v. 49, n. 3, p. 87-95, 2004
- 48 MOLCHANOVA, E. I.; ONDAR, U. V.; GOMUL'SKAYA, G. V.; KARPUKOVA, O. M.; SMAGUNOVA, A. N.; PAVLINSKII, G. V. Development of a unified X-ray fluorescence procedure for determining heavy metals in biological materials. *Journal of Analytical Chemistry*, v. 59, n. 8, p. 715-721, 2004
- 49 RIGAKU Co. **X-Ray Fluorescence Spectrometer Instruction Manual RIX3100 N° ME322HA**, RIGAKU Co.
- 50 FERREIRA, M. O. M.; SATO, I. M.; SALVADOR, V. L. R. Validação da metodologia analítica na determinação de componentes inorgânicos em plantas medicinais *Valeriana officinalis*, *Ginkgo folium* e *Echunodorus macrophyllus*. In: METROLOGIA-2003 – METROLOGIA PARA A VIDA. Anais do Metrochem 2003, 01-05, Setembro, 2003, Recife, Brasil
- 51 COUTO, P. R. G. Estimativa da incerteza de medição na análise química quantitativa em ensaios, **SQL metrologia e qualidade (apostila)**, São Paulo 2002

52 ATALLA, L. T. Interpretação quantitativa de resultados experimentais. ***Instituto de Energia Atômica***, Inf. IEA 60, 1978.

53 CHATFIELD, C. ***Statistics for Technology***. Chapman and Hall, 1979.

54 BODE, P. Instrumental and organizational aspects of a neutron activation analysis laboratory. PhD Thesis, Interfaculty Reactor Institut, The Netherlands, 1996