



BR9939127



CNEN/SP

ipen Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares

AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

INS.BR--3740

**ANÁLISE DE EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS
PELO MÉTODO DE ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS**

SANDRA MUNTZ VAZ

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

Orientadora:
Dra. Mitiko Saiki

São Paulo

30 - 44

1995

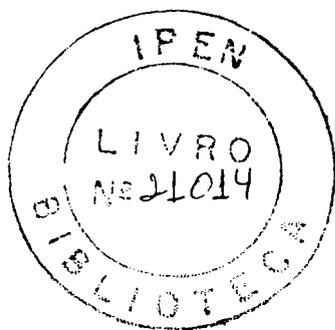
DISCLAIMER

Portions of this document may be illegible in electronic image products. Images are produced from the best available original document.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ANÁLISE DE EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS PELO
MÉTODO DE ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

SANDRA MUNTZ VAZ



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

Orientadora: Dra. Mitiko Saiki

São Paulo

1995

ANÁLISE DE EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS PELO MÉTODO DE ATIVÇÃO COM NÊUTRONS

Sandra Muntz Vaz

RESUMO

Apresentam-se neste trabalho os resultados obtidos na análise por ativação com nêutrons dos extratos das plantas *Achyrocline satureoides* DC, *Casearia sylvestris*, *Centella asiatica*, *Citrus aurantium* L., *Solano lycocarpum*, *Solidago microglossa*, *Stryphnondedron barbatiman* e *Zingiber officinale* R. popularmente utilizadas como medicinais.

Descrivem-se sobre as características das plantas medicinais estudadas, sobre as interações existentes entre as plantas e os elementos presentes no solo e no ambiente externo, bem como sobre a metodologia empregada.

Os elementos Al, Br, Ca, Ce, Cl, Cr, Cs, Fe, K, La, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc e Zn são determinados pelo método de análise por ativação instrumental. Os elementos Hg e Se são determinados utilizando a técnica de separação radioquímica, por meio da retenção do Se no trocador inorgânico dióxido de manganês hidratado (HMD) e do Hg pela extração com solução de dietilditiocarbamato de bismuto em clorofórmio.

A precisão e a exatidão do método são avaliadas pela análise de materiais de referência certificados: Pepperbush no.1 do NIES e Citrus Leaves 1572 do NIST para o caso da análise instrumental e os materiais Fish Flesh Homogenate e Copepod ambos da IAEA para a análise do Hg e Se com separação radioquímica. Discutem-se a exatidão e a precisão dos resultados e apresenta-se o problema de interferências encontradas na análise de alguns elementos.

Descrive-se sobre a função biológica dos elementos

toxicidade ou da sua essencialidade nos organismos humanos. Também apresenta-se uma breve discussão sobre a ação terapêutica de alguns elementos encontrados nos extratos.

SUMÁRIO

	página
1 - INTRODUÇÃO	01
2 - CONSIDERAÇÕES SOBRE AS PLANTAS MEDICINAIS	15
2.1 - Plantas medicinais analisadas	15
2.1.1 - <i>Achyrocline satureoides</i> DC	16
2.1.2 - <i>Casearia sylvestris</i>	17
2.1.3 - <i>Centella asiatica</i>	19
2.1.4 - <i>Citrus aurantium</i> L.	19
2.1.5 - <i>Solano lycocarpum</i>	20
2.1.6 - <i>Solidago microglossa</i>	22
2.1.7 - <i>Stryphnondedron barbatiman</i>	24
2.1.8 - <i>Zingiber officinale</i> R.	25
2.2 - Composição elementar nas plantas	28
2.2.1 - Interação entre os elementos do solo e a planta	28
2.2.2 - Interação entre os elementos do meio externo (ar) e a planta	33
3 - MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO INSTRUMENTAL E COM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA	35
3.1 - Análise por ativação com nêutrons	35
3.1.1 - Equação fundamental da análise por ativação	38
3.1.2 - Análise por ativação absoluta	42
3.1.3 - Análise por ativação comparativa	43
3.2 - Separação radioquímica utilizando trocadores inorgânicos e extração com solventes	45
3.2.1 - Separação utilizando trocadores inorgânicos	48
3.2.2 - Extração com solventes	53

3.2.2.1	- Extração do mercúrio com dietilditiocarbamato de bismuto	55
3.2.2.2	- Influência do pH na extração do Hg com Bi(DDC) ₃	59
4	- PARTE EXPERIMENTAL	61
4.1	- Análise por ativação com nêutrons instrumental	62
4.1.1	- Equipamentos utilizados	62
4.1.2	- Preparação dos padrões sintéticos dos elementos	63
4.1.3	- Extratos das plantas medicinais	66
4.1.4	- Estabelecimento de condições adequadas para análise por ativação instrumental	67
4.1.5	- Procedimento para análise de extratos de plantas medicinais pelo método de ativação com nêutrons instrumental	68
4.1.6	- Análise dos materiais de referência	71
4.2	- Análise de mercúrio e selênio pelo método de separação radioquímica	72
4.2.1	- Equipamentos utilizados	72
4.2.2	- Materiais e reagentes	72
4.2.3	- Soluções utilizadas e condicionamento do trocador inorgânico dióxido de manganês hidratado	74
4.3	- Procedimento para análise de mercúrio e selênio por meio da separação radioquímica	78
4.3.1	- Estabelecimento das condições experimentais para a separação radioquímica	78
4.3.2	- Procedimento para a separação radioquímica	79
4.3.3	- Preparação dos padrões para a análise de mercúrio e selênio	81
4.3.4	- Contagens	82
4.3.5	- Determinação do rendimento da separação	84

4.3.6 - Análise dos materiais de referência	84
4.3.7 - Análise dos extratos das plantas medicinais	85
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
5.1 - Análise por ativação com nêutrons instrumental	88
5.1.1 - Resultados da INAA dos materiais de referência "Pepperbush" e "Citrus Leaves"	88
5.1.2 - Resultados da INAA dos extratos das plantas medicinais	93
5.2 - Determinação de mercúrio e selênio pelo método de separação radioquímica	102
5.2.1 - Resultados da determinação do rendimento da separação radioquímica	102
5.2.2 - Resultados da determinação de mercúrio e selênio em materiais de referência por RNAA	103
5.2.3 - Resultados da determinação de mercúrio e selênio em extratos medicinais por RNAA	106
5.3 - Análise dos resultados obtidos nos extratos das plantas medicinais	110
5.4 - Limite de detecção dos elementos	114
5.5 - Funções dos elementos no organismo humano	117
5.6 - Conclusões	140
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	142
APÊNDICE 1 - CARACTERÍSTICAS DAS PLANTAS MEDICINAIS ANALISADAS	151

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como alimento ou para fins medicinais é tão antiga como a existência do homem sobre a Terra. O ser humano ao observar os animais se alimentarem de plantas também as experimentava e assim começou a perceber que determinados tipos de plantas aliviavam certos distúrbios como as dores de estômago, dores de cabeça, cólicas intestinais e outros tipos de males como as dores musculares que eram atenuadas pelo uso externo das plantas.

A partir deste conhecimento popular, o uso das plantas com finalidade medicinal foi se difundindo muito nos países orientais, principalmente, na China e no Japão. Esse conhecimento sobre o uso das plantas medicinais é, portanto, o fruto de milhares de anos de experiência humana. Os procedimentos para a seleção de fontes naturais para fins curativos e preventivos foram então, posteriormente, catalogados em uma grande variedade de publicações na área da medicina e da botânica.

Entretanto, nos últimos 500 anos, a evolução do tratamento de doenças pelo uso de plantas medicinais foi diferente nos dois países mais tradicionais nesta área, China

e Japão. Desta forma, atualmente existe uma postura diferente ao se encarar a utilização de plantas na diagnose de doenças.

Na China, onde a fitoterapia constitui uma longa história, atualmente a orientação médica chinesa é conduzida tanto pela aplicação da medicina tradicional ou alternativa, também chamada de medicina oriental, bem como pelo sistema de tratamento pelo uso de remédios sintéticos ou pela alopátia.

No Japão, esta medicina oriental foi altamente empregada até o século 19, quando não foi mais autorizado o seu emprego. Entretanto, o conhecimento e a tecnologia sobre este tipo de medicina se mantiveram vivos por uma minoria de pesquisadores japoneses que muitas vezes começam a vida acadêmica com a medicina convencional, mas gradativamente começam também a se interessar pela medicina oriental do uso de plantas. Devido aos efeitos colaterais que as drogas sintéticas podem apresentar e aos significantes resultados terapêuticos obtidos na cura de diversos tipos de doenças pela medicina oriental, esta medicina alternativa pelo uso de plantas medicinais tem sido vista no Japão com boa reputação e já faz parte como um dos meios para tratamentos médicos. Também a X Farmacopéia Japonesa de 1981 relata sobre 119 drogas naturais sendo 102 obtidas à base de plantas medicinais, 11 de extratos das plantas ou ingredientes isolados, 5 de drogas de origem animal e uma mineral⁽¹⁾.

Quando os primeiros europeus chegaram ao Brasil encontraram os indígenas utilizando-se da vegetação que

existia ao seu redor para vários fins, pois a economia e os hábitos alimentares dos índios eram dependentes dela. Conseqüentemente, muitos nomes das plantas brasileiras, particularmente aqueles de origem tupi, foram mantidos e adotados pelos colonizadores e alguns destes nomes são ainda hoje usados.

O primeiro estudo realizado sobre as plantas medicinais brasileiras data de 1797, quando um médico português que visitava o Brasil, Dr. Bernadino Antônio Gomes, catalogou e estudou as 15 variedades de plantas conhecidas com nomes populares de auda-açú, pipi, guapibeira, erva de cobra, batata de purga, barbatimão, contra-erva, mangabeira, tabebuia, coqueiro de guriri, mil-homens, jarrinha, jaqueira, craveiro da terra e maririçú⁽²⁾. Hoje cada vez mais está sendo confirmada a grande eficácia das plantas catalogadas naquela época para fins medicinais.

Atualmente, o estudo das plantas medicinais, de uma maneira geral, é feito em todos os continentes, havendo um número maior de pesquisas onde elas são utilizadas popularmente para fins medicinais, tais como Índia, Argentina, Brasil, alguns países da Europa, África, Japão, China e Estados Unidos.

O crescente interesse despertado ao estudo das plantas medicinais se deve também às constantes críticas que as drogas sintetizadas a partir de produtos químicos (alopatia) passaram a sofrer. Os remédios convencionais podem

apresentar na maioria dos casos efeitos colaterais e no Brasil as matérias-primas utilizadas nas suas sínteses tem um alto custo de importação. Além disso, a diversidade da flora brasileira pode ser aproveitada para o desenvolvimento da medicina brasileira. As plantas podem se tornar uma fonte para a extração das matérias-primas para a síntese de diversos tipos de medicamentos.

Assim, para o desenvolvimento e ampliação do uso de plantas medicinais tornam-se primordiais os estudos sobre a obtenção e identificação de novos princípios ativos bem como as investigações sobre a correlação com os fatores que afetam a formação, o crescimento e as características medicinais das plantas. Consequentemente, os estudos envolvendo plantas medicinais têm merecido especial atenção e constituem hoje temas de pesquisas multidisciplinares como da química, bioquímica, farmácia, medicina e outros⁽³⁻⁶⁾.

Convém ressaltar ainda que o estudo de plantas medicinais é de tal importância que a Organização Mundial da Saúde (WHO) em julho de 1991 reuniu em Munique diversos cientistas internacionais para uma revisão dos princípios ativos medicinais e para a elaboração de regulamentos para o uso de fitofármacos⁽⁷⁾.

Além disso, o estudo sobre plantas medicinais tem se tornado nos últimos anos assunto de pesquisa cada vez mais difuso. Desta forma foram examinados os mais diferentes aspectos sobre o uso de plantas medicinais, tais como os

tópicos associados à problemática na utilização das plantas medicinais⁽⁸⁾, revisões de leis que têm sido realizadas nos países que as utilizam⁽⁹⁾, assim como a engenharia genética e a biologia molecular associada a este tipo de material^(10,11), a diversidade e potencialidade em que as plantas das florestas tropicais apresentam como fontes de produtos medicinais⁽¹²⁾, a extração de princípios ativos⁽¹³⁾, a industrialização das plantas para fins medicinais⁽¹⁴⁾, os efeitos dos fertilizantes nas plantas medicinais⁽¹⁵⁾ e também sobre os meios de preservação das plantas medicinais⁽¹⁶⁾.

A análise elementar das plantas medicinais ou de seus extratos também constitui tema de pesquisa de grande interesse. Para a caracterização dos princípios ativos e posterior avaliação exata do valor medicinal ou da toxicidade da planta é necessária a determinação de seus componentes inorgânicos. Além disso, dependendo dos seus teores, certos elementos podem ocasionar interferência na ação fisiológica da planta.

Convém salientar ainda que a composição elementar assim como o poder curativo das plantas podem depender além das suas características próprias, de vários fatores tais como: idade da plantas, técnicas agrícolas empregadas no seu plantio, época da coleta, pH, aeração e composição elementar do solo, clima e condições ambientais como temperatura e índice pluviométrico. Portanto, uma vez detectada e confirmada a eficácia do princípio ativo de uma determinada planta,

torna-se necessário o controle de suas características químicas, físicas, biológicas e botânicas.

A análise elementar de extratos medicinais poderá ainda contribuir no estabelecimento da dosagem dos fitofármacos visto que, dependendo dos teores de certos elementos as plantas podem ser tóxicas ao ser humano. Uma planta medicinal contendo concentrações de metais pesados superiores aos valores máximos permissíveis pode causar intoxicações e problemas bastante graves, uma vez que as plantas medicinais são geralmente usadas por longos períodos de tratamento por via oral.

Acredita-se também, que a análise de extratos de plantas medicinais, além de permitir o seu uso em condições padronizadas e mais seguras, poderá contribuir para o desenvolvimento da biotecnologia dos produtos naturais trazendo um incentivo ao plantio das plantas medicinais de uma forma mais racional e à sua industrialização a baixo custo.

Os dados deste tipo de estudo juntamente com outros complementares realizados por outras linhas de pesquisa (orgânica, físico-química, botânica, etc) poderão também ser utilizados com o objetivo de se patentear os processos de obtenção ou o princípio ativo de certos componentes presentes nas plantas.

Entre as várias linhas de estudo realizadas envolvendo a análise de elementos em plantas medicinais

destacam-se duas: a da determinação de elementos como Al, Fe, Mn, Mg, Na, K, Zn e outros elementos que afetam pela deficiência ou toxicidade na fisiologia da planta e a outra linha de estudo sobre a quantificação dos elementos, em geral para estudar a toxicidade ou a sua correlação com o valor medicinal e ação terapêutica.

Além disso, há trabalhos sobre análise de matrizes de origem vegetal que se tratam de estudos sobre a correlação existente entre os elementos traço presentes na planta e a composição do solo⁽¹⁷⁾, dos efeitos da poluição ambiental nas plantas^(18,19), da distribuição dos elementos nas diversas partes de uma planta⁽²⁰⁾, bem como da avaliação de elementos tóxicos e essenciais à saúde humana em produtos agrícolas⁽²¹⁾.

Vários trabalhos têm sido publicados sobre a análise dos elementos em plantas medicinais e dentre eles destaca-se o de Wang e colaboradores⁽²²⁾ da Tailândia que analisaram os elementos Zn, Mn, Ca, Cu, Ni, Al, K, Mg, Cd, Pb, Na, Co e Sc utilizando três métodos analíticos: espectrometria de absorção atômica com chama (AAS), análise por ativação com nêutrons (NAA) e espectrometria de emissão atômica com plasma induzido (ICP-AES) para comparação entre os resultados dos métodos utilizados. Foram analisados três tipos de chá: fermentado, parcialmente fermentado e não fermentado e as concentrações dos diversos elementos encontrados variaram de 10^{-2} a 10^{-9} g/g, mas não foi verificada uma diferença significativa entre os três tipos de chá. Neste trabalho relacionando-se as concentrações dos elementos presentes nos chás com as do solo

foi verificado que o solo influi fortemente no conteúdo dos elementos Cd, K, Mn e Zn presentes nos chás. O trabalho salienta também sobre a importância na identificação da forma química dos elementos presentes neste tipo de material, sobre como a presença de certos elementos está ligada ao estado nutricional e ao crescimento das plantas e que a técnica que apresentou melhores resultados foi a NAA.

Na China, Chen e colaboradores⁽²³⁾ determinaram K, Sc, Fe, Co, Zn, Br, Rb, Cs, La, Sm, Eu, Cr, Au e Th em 75 remédios naturais pelo método de análise instrumental por ativação com nêutrons (INAA) e investigaram a relação existente entre o efeito terapêutico da planta e a concentração dos elementos determinados. Os seus resultados mostraram que as concentrações dos elementos encontrados em plantas diferentes, porém destinadas para um mesmo tipo de uso terapêutico (por exemplo drogas diuréticas), foram bastante similares, indicando a existência de uma possível correlação entre o efeito terapêutico da planta e as concentrações dos elementos nelas presentes. Estes pesquisadores afirmam também que a presença de certos elementos essenciais na planta não significa que eles atuem somente na cura de doenças, mas também para suprir a sua deficiência para o organismo humano.

Zhang e colaboradores⁽²⁴⁾ determinaram Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e Zn em trinta remédios naturais e tradicionais chineses pelo método de emissão de raios-X por partícula induzida (PIXE) e concluíram por meio da análise estatística dos resultados que estes remédios podem ser classificados em

dois grupos distintos segundo os seus efeitos farmacológicos de tônico e não tônico.

Ainda na China, Ye e Huang⁽²⁵⁾ determinaram elementos traço em remédios tradicionais chineses por espectrometria de emissão atômica.

Na Iugoslávia, Bumbálová e colaboradores⁽²⁶⁾ estudaram por fluorescência de raios-X uma mistura das plantas Nephrosal (*Folium betulae*, fructus phaseoli sine sem., herba equiseti, *Radix onomidis*, *Folium urticae*) que apresentam efeito desinfetante e diurético. Foram analisadas amostras de misturas destas plantas obtidas nas formas de pílula, secas naturalmente e secas com aquecimento à 65°C por 2h e também na sua infusão. Foi feita uma análise qualitativa das diferentes amostras da mistura e foi encontrado um número maior de elementos nas amostras secas naturalmente.

Na Nigéria, Fankankun e colaboradores⁽²⁷⁾ determinaram, por análise por ativação com nêutrons, Na, Mg, K, Ca, Sc, Ti, V, Mn, Cr, Fe, Co, Zn, Br, Rb, Sn, Cs, Ba, La, Ce, Sm, Eu, Dy, Hf e Th em cinco tipos de madeiras utilizadas para fins medicinais: *Azadirachta indica*, *Astonia congensis*, *Chlorophora excelsa*, *Antiaris africana* e *Brachystegia euricomia*. Seus resultados indicaram que as concentrações dos vários elementos obtidos nestas plantas são relativamente altas quando comparadas com as concentrações dos mesmos elementos encontrados em plantas tropicais, entretanto, são da

mesma ordem de grandeza de outras plantas medicinais da Nigéria previamente estudadas.

Na Grécia, Kaniás e colaboradores⁽²⁹⁾ determinaram nas folhas da planta medicinal *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh (*E. rostratus* Schlecht) coletadas em diferentes áreas, diversos elementos por análise por ativação e três óleos essenciais (1,8-cineole, p-cimeno e α -pineno) por cromatografia gás-líquido. As amostras foram separadas pelas áreas de amostragem e uma correlação estatisticamente significativa foi observada entre os princípios ativos e alguns elementos traço encontrados na referida planta, mas uma correlação entre o 1,8-cineole e o seu valor de índice de refração não foi verificada.

No Japão, Kameoka⁽²⁹⁾ avaliou os constituintes voláteis como óleos essenciais, responsáveis pelos odores nas plantas medicinais e tentou relacioná-los com as propriedades medicinais e ao sabor. Uma correlação entre os odores típicos e os constituintes identificados pôde ser encontrada em todos os tipos de plantas analisadas.

Na Rússia, Lovkova e colaboradores⁽³⁰⁾ determinaram selênio em plantas medicinais da flora russa. Dentre as 192 espécies e 44 famílias das plantas analisadas, 32 espécies e 15 famílias apresentaram pronunciada capacidade de acúmulo de selênio.

Verifica-se que, de maneira geral, trabalhos sobre a identificação de princípios ativos e estudos farmacológicos das plantas medicinais têm sido amplamente divulgados e nos últimos anos com o conhecimento da função dos elementos no organismo humano, a sua análise elementar tem se tornado objeto de inúmeras pesquisas.

Na Divisão de Radioquímica do IPEN-CNEN/SP a análise dos extratos das plantas medicinais teve início em 1987 em colaboração com o Instituto de Ciências Biomédicas da USP. Saiki e colaboradores⁽³¹⁾ aplicaram o método instrumental de ativação com nêutrons (INAA) para análise de Al, Br, Ca, Cl, Co, Cs, Fe, K, La, Mg, Mn, Na, Rb, Sb e Zn em extratos de *Cordia verbenacea* DC (erva baleeira), *Solidago microglossa* DC (arnica do Brasil) e *Petiveria alliacea* (guiné).

Dando continuidade a este estudo⁽³¹⁾, neste trabalho foi feita a determinação de constituintes inorgânicos nos extratos das seguintes plantas brasileiras utilizadas popularmente como medicinais: *Achyrocline satureoides* DC (macela), *Casearia sylvestris* (guaçatonga), *Centella asiatica* (cairuçú), *Citrus aurantium* L. (laranja amarga), *Solanum lycocarpum* (fruto do lobo), *Solidago microglossa* (arnica do Brasil), *Stryphnodendron barbatiman* (barbatimão) e *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) visando uma contribuição ao estudo destas plantas com relação ao seu valor medicinal e à sua toxicidade.

A descrição das características das plantas medicinais cujos extratos foram analisados neste trabalho está apresentada no Capítulo 2.

A técnica utilizada neste trabalho foi a análise por ativação com nêutrons. O método puramente instrumental de análise por ativação permite a determinação de vários elementos simultaneamente, entretanto, dependendo do elemento a ser determinado, da sua concentração e da matriz torna-se necessário lançar mão da análise destrutiva utilizando a separação radioquímica.

Nos materiais biológicos, em geral, a análise instrumental está sujeita a interferências espectrais de elementos, geralmente presentes em altas concentrações ou facilmente ativáveis como Br, K, Na e P. As altas atividades do ^{82}Br , ^{42}K , ^{24}Na e ^{32}P impedem a realização das medidas logo após a irradiação, com a saturação do detector, ou ainda, mascaram as radioatividades menos intensas dos radioisótopos dos elementos de interesse que estão em baixas concentrações.

Foram determinados, no presente trabalho, pelo método instrumental de análise por ativação com nêutrons (INAA), os seguintes elementos: Al, Br, Ca, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc e Zn. Verificou-se, entretanto, que os elementos Se e Hg não podem ser determinados pelo método puramente instrumental.

O mercúrio e o selênio são elementos de grande interesse para serem determinados nos extratos medicinais. O mercúrio é um elemento tóxico e o selênio pode ser tóxico ou essencial dependendo do seu teor. Além disso, estes elementos se encontram em concentrações muito baixas para serem determinados pela INAA. Para a determinação destes dois elementos foi necessário utilizar o procedimento radioquímico, visto que a sua determinação pela INAA apresenta sérias interferências devido às altas atividades de vários radionuclídeos como ^{24}Na , ^{42}K , ^{82}Br e ^{32}P . Além disso, o pico de 279,6 keV do ^{75}Se interfere na medida do pico de 279,1 keV do ^{203}Hg , que é o pico mais importante do ^{203}Hg . Devido também à alta volatilidade do mercúrio, é difícil sua determinação mesmo com a separação radioquímica.

O método de separação empregado foi baseado no trabalho de Greenberg⁽³²⁾. Este método de separação radioquímica (RNAA) consiste na retenção do selênio no trocador inorgânico dióxido de manganês hidratado (HMD) e posterior extração do mercúrio presente na solução efluente da coluna de HMD com solução de dietilditiocarbamato de bismuto dissolvido em clorofórmio.

Foram também analisados neste trabalho materiais biológicos de referência certificados para exame da exatidão dos métodos INAA e RNAA.

Discutem-se neste trabalho sobre a qualidade dos resultados obtidos quanto à precisão e exatidão e apresentam-

se os valores dos limites de determinação. Em relação aos elementos encontrados nos extratos medicinais serão abordados brevemente sobre as suas funções no organismo humano bem como sobre a sua toxicidade ou essencialidade.

CAPÍTULO 2

CONSIDERAÇÕES SOBRE AS PLANTAS MEDICINAIS

Neste Capítulo serão abordadas sobre as características das plantas medicinais cujos extratos foram analisados neste trabalho e sobre os diversos fatores que influenciam a composição elementar de plantas de um modo geral.

2.1 - Plantas Medicinais Analisadas

Serão descritas, a seguir, as características das plantas medicinais para as quais foram obtidos os extratos para estudo. As plantas estudadas foram: *Achyrocline satureoides* DC (macela), *Casearia sylvestris* (guaçatonga), *Centella asiatica* (cairuçu), *Citrus aurantium* L. (laranja amarga), *Solanum lycocarpum* (fruto do lobo), *Solidago microglossa* (arnica do Brasil), *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão) e *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre). Serão apresentados dados sobre a origem, o uso popular, local da coleta e a parte da planta comumente utilizada para a obtenção dos extratos para fins medicinais.

2.1.1 - *Achyrolcline satureoides* DC^(33, 34)

A planta *Achyrolcline satureoides* DC originária do Brasil, conhecida pelos nomes de macela, marcela, paina ou perpétua-do-mato pertencente à família das *Compositae* é utilizada como agente sudorífero, contra problemas digestivos e como bactericida. É uma planta herbácea ou subarbustiva, viva, ereta, de até aproximadamente 1,5 metros de altura com caules cilíndricos, galhos curtos e as suas folhas alternas e aveludadas apresentam as bordas recortadas. As inflorescências são formadas por minúsculas flores amarelas, hermafroditas, que nascem no centro do conjunto e lateralmente, cercando esse "miolo" amarelo, estão as flores brancas. Essas flores surgindo na extremidade dos ramos, se assemelham às margaridas e exalam suave aroma. Na Fig.2.1 está a foto desta planta. Foram utilizadas as partes aéreas (folhas, flores e fruto) colhidas em Vargem Grande no Estado de São Paulo.

Esta planta foi estudada por Garcia e colaboradores⁽³⁵⁾ que concluíram que ela não apresenta a propriedade de atividade antiviral.

2.1.2. *Casearia sylvestris*^(33, 34)

É uma planta originária da América tropical, da família das *Flacourtiaceae* e com nome popular de guaçatonga, guaça ou erva-de-bugre. Ela é semelhante à planta do café, um arbusto de até 10 metros de altura, com casca rugosa, ramos alongados, folhas alternadas, oval-acuminadas e serreado-dentadas. As flores são numerosas e de cores branco-esverdeadas ou amareladas e os seus frutos são pequenos e vermelhos quando maduros. Para o presente estudo foram coletadas folhas desta planta existentes em São Roque, SP. Na Fig.2.2 está apresentada a foto da *Casearia sylvestris*. No caso desta planta seus extratos foram obtidos de folhas de duas formas: secas e frescas. Esta planta é utilizada como cicatrizante, anti-séptico, anestésico local e antiulcerogênico.

Basile e colaboradores⁽³⁶⁾ estudaram o efeito do extrato da *Casearia sylvestris* em úlcera gástrica induzida por stress e avaliaram sua toxicidade aguda em termos de DL_{50} , comprovando sua eficácia como agente antiúlcera. DL_{50} é a quantidade acima da qual uma substância pode provocar toxicidade.



Fig. 2.1 - Fotografia das flores
da *Achyrolcline saturoides* DC
(macela). Escala 1:4



Fig. 2.2 - Fotografia das folhas
e sementes da *Casearia sylvestris*
(guaçatonga). Escala 1:4

2.1.3 - *Centella asiatica*^(33,34)

Esta planta pertencente a família das *Umbelliferae* e com origem em Madagascar é popularmente conhecida com o nome de cairuçu ou pé-de-cavalo. Trata-se de uma erva prostrada, perene e vagamente aromática. Seu uso está principalmente centrado no combate à celulite, varizes e regimes de emagrecimento sendo também utilizada contra doenças da pele. Na Fig.2.3 é apresentada a foto da planta. Para a obtenção do extrato as folhas desta planta foram coletadas no campus da Universidade de São Paulo, SP.

Na Índia, Nalini e colaboradores⁽³⁷⁾ estudaram os efeitos do extrato aquoso das folhas frescas da *Centella asiatica* na avaliação do aprendizado e memória em ratos e concluíram que ela é realmente eficaz para estes fins.

Diwan e colaboradores⁽³⁸⁾ avaliaram a influência do extrato solúvel em água das folhas da *Centella asiatica* no sistema nervoso central de ratos e verificaram uma atividade de debilidade do sistema nervoso central comparáveis ao diazepam.

Sakina e Danduja⁽³⁹⁾ confirmaram a atividade sedativa e antidepressiva do extrato da *Centella asiatica* e tentaram relacionar tais atividades com alguns compostos nela presentes.

2.1.4 - *Citrus aurantium* L. ^(33, 34)

Popularmente conhecida como laranja amarga, laranja azeda ou laranja silvestre, esta planta da família das Rutaceae tem sua origem na Ásia. A árvore é de porte pequeno ou médio, de 5 a 10 metros de altura com sua copa densa e esférica. Seus caules possuem espinhos finos, pontiagudos, fortes e rijos e as suas folhas são simples, firmes, oval-elípticas, alternas. As flores possuem inúmeras e minúsculas glândulas produtoras de um óleo essencial, que exala forte aroma adocicado ao mais leve toque. O fruto é redondo, de coloração alaranjada ou frequentemente avermelhada, quando bem maduro, de superfície geralmente áspera; a casca é aromática, polpa ácida, sementes achatadas. Na Fig.2.4 está apresentada a foto da planta *Citrus aurantium* L. Esta planta é utilizada popularmente contra má digestão e acidez estomacal. Para o presente trabalho as cascas do fruto desta planta foram obtidas na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo (CEAGESP).



Fig. 2.3 - Fotografia das folhas
da *Centella asiatica* (cairuçu).

Escala 1:4



Fig. 2.4 - Fotografia da *Citrus aurantium* L.
(laranja amarga). Escala 1:3

2.1.5. *Solano lycocarpum*^(33,34)

É uma planta da família das *Solanaceae*, originária do Brasil e com os seguintes nomes populares: fruto do lobo, lobeira e baba de boi. Apresenta-se na forma de erva espinhosa, cujos ramos se elevam até cerca de 50 cm do solo. Sua haste e folhas são cheias de espinhos, sendo as folhas pecioladas, lobadas e relativamente grandes. Suas flores reunidas em pequenos grupos, formam estrela-verde-amareladas e os seus frutos são perfeitamente esféricos ou algo achatado na base, aderente ao cálice, pálido e marcado com traços verde-escuros. Na Fig.2.5 é apresentada a foto desta planta. Neste trabalho as partes usadas para a obtenção do extrato foram os frutos provenientes de Caxambú (Minas Gerais). Esta planta é popularmente utilizada como agente calmante, analgésico, sedativo, diurético e anti-inflamatório.

2.1.6. *Solidago microglossa*^(33, 34)

Esta planta originária do Brasil, conhecida como arnica-do-Brasil e pertencente à família das *Compositae* é uma planta herbácea, anual, de 30 a 60 cm de altura. Seu talo é florífero e veloso e suas folhas se reúnem rente ao solo, de onde nasce um único caule roliço, sulcado e com pêlos. Suas



Fig. 2.5 - Fotografia das folhas da *Solano lycocarpum* (fruto do lobo). Escala 1:4



Fig. 2.6 - Fotografia das folhas e flores da *Solidago microglossa* (arnica do Brasil). Escala 1:4

flores são amarelas ou alaranjadas e tubulosas. Os frutos são pardos e com papilo branco. Na medicina popular a arnica é utilizada como anti-inflamatório. Na Fig.2.6, a fotografia da planta *Solidago microglossa*, é mostrada. As partes aéreas (caule, folhas e flores) desta planta coletadas no campus da Cidade Universitária em São Paulo, SP foram utilizadas no presente trabalho.

2.1.7. *Stryphnondedron barbatiman*^(33, 34)

Esta planta da família das *Leguminosae* e originária do Brasil é conhecida popularmente com os nomes de barbatimão, uabatimão ou barba de Timão. É um arbusto de tamanho regular ou árvore pequena de caule e ramos tortuosos, revestidos de pouca folhagem, casca rugosa com folhas palmadas e pequeninas e com flores pequenas, esbranquiçadas e numerosas, que se agrupam formando espigas densas, com cerca de 10 cm de comprimento e o seu fruto se apresenta sob a forma de vagem que contém sementes um pouco achatadas e de coloração castanho-clara. A foto desta planta está mostrada na Fig.2.7. Os extratos desta planta foram obtidos a partir da casca da árvore proveniente de São Roque (São Paulo). Esta planta é geralmente utilizada na medicina popular como agente anti-hemorrágico, adstringente, tônico, cicatrizante, hipoglicemiante entre outros usos. Esta planta apresenta taninos na sua composição.

2.1.8. *Zingiber officinale* Roscoe^(33, 34)

É uma planta herbácea perene pertencente a família das *Zingiberaceae*, originária da Ásia tropical (Índia) e é conhecida pelos nomes populares de gengibre, gengivre ou mangarataí. Para a obtenção do extrato foram utilizadas as raízes frescas desta planta coletadas em Caraguatatuba, São Paulo. Esta planta se apresenta na forma de rizoma perene, anguloso e muito ramoso, de 1-2 cm de espessura, ligeiramente achatado, carnoso, com epiderme rugosa, amarelada ou pardacenta, tendo na parte superior pequenos tubérculos anelados e na parte inferior numerosas raízes cilíndricas brancas e carnosas. Os seus caules eretos de 30 a 120 cm de altura são guarnecidos de folhas dísticas, ovais e compridas; e o fruto é uma cápsula com sementes. Na Fig.2.8 está a foto das folhas e rizomas da *Zingiber officinale* Roscoe. Os rizomas desta planta são utilizados como estimulante, anti-oxidante e cicatrizante e contra úlcera.

Vohora e Danduja⁽⁴⁰⁾ que fizeram uma revisão de várias plantas analgésicas afirmam a possibilidade da *Zingiber officinale* Roscoe apresentar propriedades analgésicas quando usada sozinha ou associada a alguma outra planta.

Mukherjee⁽⁴¹⁾ revisou várias plantas previamente estudadas para uso contra malária e afirma que um medicamento contendo a *Zingiber officinale* R. em conjunto com outras

plantas se apresenta disponível no mercado para o tratamento da malária.

No Apêndice I está um resumo das principais informações das plantas utilizadas na obtenção dos extratos.



Fig. 2.7 - Fotografia das folhas
da *Stryphnondedron barbatiman*
(barbatimão). Escala 1:4



Fig. 2.8 - Fotografia dos rizomas e das folhas da *Zingiber
officinale* R. (gengibre)
Foto menor: escala 1:2, foto maior: escala 1:4

2.2 - Composição elementar nas plantas

Os teores dos elementos presentes em plantas dependem de vários fatores, a saber: condições climáticas, solo, sistema ecológico onde a planta fora cultivada, idade, espécie e parte da planta analisada.

Do ponto de vista da evolução de uma planta e devido à fatores genéticos, cada espécie apresenta composições comuns a todas elas e apresenta composições específicas para sobreviver no seu habitat natural resultando em variações na concentração dos elementos entre grupos de plantas diferentes.

2.2.1. Interação entre os elementos do solo e a planta

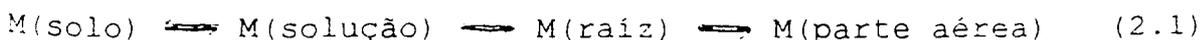
Os elementos encontrados em uma determinada planta podem ser ou não ser necessários ao seu desenvolvimento e crescimento. As plantas não discriminam os elementos na absorção, mas, de modo geral, de todos os absorvidos apenas quinze elementos tem sido considerados como sendo necessários ou essenciais. São eles P, S, Cl, B, K, Na, Mg, Ca, N, Zn, Mn, Fe, Co, Cu e Mo ⁽⁴⁰⁾. Desta forma, devido à complexidade do solo muitos elementos podem ser absorvidos pela planta e não desempenhar função alguma. Por outro lado, muitos elementos

presentes no solo podem também estar presentes em teores não apropriados e causar deficiência ou toxicidade às plantas.

Um dado elemento é considerado essencial à planta quando na ausência deste elemento a planta não consegue sobreviver. Deve-se considerar, entretanto, que um dado elemento pode ser essencial a uma dada espécie e a outra não. Por exemplo, o Se em algumas espécies é essencial uma vez que este elemento foi identificado em seus diversos aminoácidos. Muitas vezes os elementos essenciais não têm sido identificados nas plantas ou ainda a presença de outros elementos essenciais não tem sido comprovada ou observada. Entretanto, nestes casos, se estes elementos estiverem presentes, eles pertencem, sem dúvida, à classe dos micronutrientes.

Os macronutrientes nas plantas são constituídos dos elementos N, P, K, Ca, Mg e S, os quais, em geral, estão em teores superiores a 0,1%. A lista de micronutrientes, que cresce lentamente à medida que se avançam os estudos na área, é constituída por B, Cu, Cl, Fe, Mn, Mo e Zn cujos teores variam de $\mu\text{g/g}$ até $\mu\text{g/kg}$, dependendo da espécie da planta.

As etapas da transferência de um íon do solo para a planta podem ser representadas pelas seguintes equações⁽⁴²⁾:



onde M é um íon qualquer presente inicialmente no solo. M(solo) representa o nutriente na fase sólida ou adsorvido à fase sólida por fenômenos físico-químicos. M(solução) representa o nutriente na fase líquida, em equilíbrio com a fase sólida, em condição imediatamente disponível às plantas. M(raiz) e M(parte aérea) representam o nutriente adsorvido pela raiz e deslocado através do córtex e cilindro central até a parte aérea da planta. Estas reações podem ocorrer em ambos os sentidos e o deslocamento depende das constantes de equilíbrio, que variam com os fatores tais como: tipo de nutriente, forma do composto, temperatura e pH. O estado de equilíbrio destas reações é raramente atingido, mas em geral o sentido predominante é da transferência dos nutrientes do solo para as partes aéreas da planta.

É possível também a passagem direta do elemento absorvido na forma iônica passar direto do solo para a raiz desde que se estabeleça o necessário contato entre ambos.

A absorção dos elementos pela planta se dá por meio de vários mecanismos: difusão (migração do íon numa fase aquosa estacionária); fluxo de massa (migração do íon numa fase aquosa móvel); adsorção (concentração superficial); equilíbrio de Donnan (passagem do íon para a parede até que o produto das concentrações dos difusíveis para o meio externo se iguale ao produto das concentrações do meio interno).

O íon caminha de uma região de menor concentração para outra de maior concentração o que exige gasto de energia

(que vem da respiração radicular) seja para vencer o gradiente de concentrações ou a permeabilidade das duas membranas ou ambas as situações.

Há vários fatores que afetam a absorção de um dado elemento pela planta, entre eles destacam-se: disponibilidade do elemento na forma apropriada no solo que depende principalmente do pH, umidade, aeração, presença de outros íons e temperatura.

A aeração, isto é, a presença de oxigênio é de vital importância visto que a respiração das raízes só se dá em sua presença.

O aumento da temperatura está diretamente relacionado com a quantidade de sais acumulada, mas pouco se sabe da maneira pela qual a baixa temperatura do solo influencia a absorção de íons no campo. O processo de acumulação dos elementos não depende inteiramente da absorção simultânea de água; se assim fosse, a concentração dos elementos no suco celular nunca poderia exceder àquela da solução, mas os íons podem ser mais ou menos rapidamente absorvidos que a água. No solo é de se esperar diminuição na absorção quando há falta de água por ser o veículo usual dos nutrientes. Por outro lado, um excesso de água, ocupando os poros do terreno, pode diminuir a absorção salina por restringir a aeração na zona das raízes. É sabido por observações ecológicas gerais que as plantas crescem, em condições naturais, em solos com pH entre 4 e 8, isto é, algumas espécies se desenvolvem em faixa mais

estreita de pH, enquanto outras são mais tolerantes à acidez do solo. Num contexto ecológico, isso indica que o pH do solo não influi muito na absorção dos elementos e isto é comprovado experimentalmente.

Com relação à presença dos diversos tipos de elementos numa planta verifica-se que podem ocorrer 3 situações para a absorção pela planta, a saber:

- antagonismo: a presença dos demais elementos presentes no solo pode diminuir a absorção de um determinado elemento evitando desta maneira a contaminação da planta pelos elementos tóxicos;

- inibição: um dado elemento pode diminuir a absorção de outro pela formação de um composto que não é absorvido. Porém um aumento na concentração de um dos elementos pode desfazer a inibição competitiva.

- sinergismo: a presença de um outro elemento aumenta a absorção de um determinado elemento.

2.2. Interação entre os elementos do meio externo (ar) e planta⁽⁴²⁾

As partes aéreas das plantas apesar de adaptadas como órgãos para fotossíntese, também têm capacidade de absorver água e nutrientes do meio externo. Cada elemento apresenta um determinado tempo e velocidade para a absorção por via das partes superiores. O transporte dos elementos das folhas para outras partes da planta, quando ocorre, tem lugar inicialmente pelo tecido condutor da seiva elaborada (floema) e tal processo exige um gasto de energia. A mobilidade do elemento dentro da planta condiciona, em grande parte, a sua eficiência para sua utilização. Não há, no entanto, uma relação muito estreita entre a velocidade de absorção dos elementos pelas partes aéreas e a sua mobilidade.

Vários são os fatores que afetam a absorção dos elementos pelas folhas e os mais representativos são:

- Contato entre as folhas e as substâncias líquidas: a absorção dos elementos exige que a superfície da folha esteja úmida.

- Condições climáticas: a temperatura do ar e a umidade relativa influenciam na absorção dos elementos pelas folhas.

- Composição: cada elemento apresenta uma velocidade diferente de absorção e a absorção de um dado elemento pode

ser afetada pela presença de outro elemento na solução. Por exemplo, a presença de óxido de cálcio provoca absorção mais lenta do zinco; a adição de magnésio diminui a velocidade de absorção de uréia, porém a presença de uréia aumenta a absorção do zinco, etc.

- pH: afeta de maneira diversificada a absorção dos elementos; em alguns casos pH 7 facilita a absorção do potássio e em pH 3 é mais favorável a absorção do fósforo.

- Luz: aumenta a absorção foliar na medida em que esta depende do fornecimento de energia fotossintética.

- Condições das folhas: normalmente as folhas novas absorvem mais nutrientes que as velhas. Nas folhas velhas a cutícula e as paredes são mais finas e o teor do elemento é menor nas células. As folhas secas ou murchas absorvem quantidades também menores de nutrientes.

Face ao exposto verifica-se que vários fatores influenciam nos teores dos elementos presentes em uma determinada parte da planta. Este fato pode explicar porque as plantas medicinais provenientes de regiões distintas podem apresentar diferenças com relação à sua eficiência na cura de doenças bem como na composição elementar das plantas.

CAPÍTULO 3

MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO INSTRUMENTAL E COM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA

3.1 - Análise por ativação com nêutrons⁽⁴³⁾

A análise por ativação consiste na produção de radionuclídeos artificiais a partir de elementos estáveis para sua identificação e determinação quantitativa. O primeiro radionuclídeo artificial foi produzido em 1934, entretanto, a primeira aplicação analítica da radioatividade artificial ocorreu entre os anos 1936 e 1938 por C. Hevesy e H. Levy que determinaram quantidades traço de disprósio por meio da ativação com nêutrons. Esta técnica não foi muito utilizada até meados de 1950, quando então surgiram fontes de nêutrons para irradiação e que se tornaram mais acessíveis. Inicialmente, fontes de radionuclídeos foram usadas para produção de nêutrons, mas devido ao seu baixo fluxo, a sua aplicação na análise por ativação foi limitada. Entretanto, com a disponibilidade de geradores de nêutrons relativamente baratos e de reatores de pesquisa, esta técnica progrediu significativamente tornando-se uma importante ferramenta analítica para análise de elementos traço de interesse nas diversas áreas da ciência e tecnologia.

Devido às características nucleares bem definidas dos elementos, essa técnica se aproxima do ideal para um método analítico não destrutivo, preenchendo os seus requisitos básicos de alta especificidade, que é a característica de poder correlacionar diretamente e de forma específica o sinal obtido com o elemento procurado e a seletividade, que é a possibilidade de se medir o elemento em questão na presença de outros elementos que emitem sinais da mesma natureza.

A análise por ativação é considerada como um dos métodos analíticos mais importantes para a análise de traço. Uma de suas principais vantagens é a capacidade de determinação de muitos elementos a níveis da ordem de ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Em alguns casos quantidades da ordem de 10^{-10} g de um dado elemento podem ser detectados. Considerando-se as várias formas possíveis de ativação, de separação de radionuclídeos, da medida e a possibilidade de se empregar radioisótopos de meias-vidas curtas e longas, pode-se afirmar que grande número de elementos podem ser determinados na faixa de concentrações da ordem de $\mu\text{g}/\text{kg}$. Quanto ao tempo necessário para análise, isto depende do elemento. Pode-se ter um resultado em algumas horas ou mesmo após 20 dias. Este método também apresenta alta exatidão e sensibilidade podendo ainda utilizar uma quantidade muito pequena de amostra (em geral 100 mg). Embora diversos métodos analíticos tenham alcançado um alto grau de desenvolvimento, principalmente no que se refere à sensibilidade para um grande número de elementos, a análise por ativação ainda ocupa um lugar de destaque entre outras técnicas de análise de traço. A análise por ativação vem sendo

extensivamente utilizada na certificação de materiais de referência, na análise de materiais de altíssima pureza, como os semicondutores utilizados na indústria eletrônica, e na análise de diversos tipos de materiais de interesse nas áreas de geologia, de ciências ambientais, medicina, etc.

Entre as desvantagens desta técnica convém ressaltar a impossibilidade de identificar a forma química dos elementos e de se determinar oxigênio, nitrogênio, hidrogênio e outros que não possuem características favoráveis para a ativação e o problema de interferências apresentadas por certos elementos por reações nucleares paralelas, pela superposição de picos ou pelo espectro Compton. Este problema das interferências é sanado lançando-se mão de uma separação radioquímica.

A análise por ativação com nêutrons diferencia-se do grande número de métodos analíticos usuais, em virtude de basear-se em reações que ocorrem com os núcleos atômicos e não com os elétrons orbitais. E deste fato ocorre a não identificação da forma química dos elementos que estão presentes na amostra.

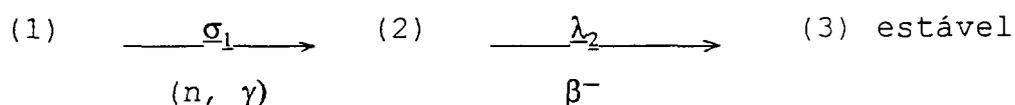
Os materiais a serem analisados são submetidos a um fluxo de partículas ativadoras (nêutrons) ocorrendo a formação de isótopos radioativos, por meio de reações nucleares. A medida das radiações emitidas por esses isótopos permite realizar análises quantitativas e qualitativas. No caso da análise por ativação as partículas ativadoras são os nêutrons

mas não significa que não possam ser ativados por outras partículas como partículas alfa, dêuterons, prótons e outras.

A probabilidade de que ocorra a reação nuclear (medida pela secção de choque, σ), a abundância isotópica do nuclídeo alvo e a meia-vida do radioisótopo formado devem ser de uma ordem de grandeza suficiente para que a análise se torne viável.

3.1.1 - Equação fundamental da análise por ativação

Supondo um determinado nuclídeo (1) submetido à ativação, formando um isótopo radioativo (2), que decai para um isótopo estável (3), tem-se o seguinte esquema:



onde σ_1 é a secção de choque de ativação do nuclídeo (1) (n, γ) é a reação de captura radioativa, em que o núcleo captura um neutron e emite radiação gama e λ_2 é a constante de decaimento do nuclídeo (2).

O crescimento do nuclídeo radioativo (2) será proporcional a σ_1 , ao fluxo de partículas ativadoras, ϕ e ao número de átomos N_1 do nuclídeo alvo (1).

A taxa de formação dN_2/dt é proporcional a σ_1, ϕ e N_1 .

Ocorre que o nuclídeo radioativo (2), uma vez formado, sofre também um decaimento devido à sua instabilidade. Esse decaimento ocorre a uma taxa $\lambda_2 N_2$, considerando que o consumo de N_1 durante a irradiação é desprezível e portanto

$$N_1 = N_1^0.$$

O crescimento resultante de N_2 será dado por:

$$dN_2/dt = \phi \sigma_1 N_1^0 - \lambda_2 N_2 \quad (3.1)$$

A solução dessa equação diferencial (equação de Leibnitz) levará à expressão:

$$N_2(t_i) = \{ \phi \sigma_1 N_1^0 [1 - e^{-\lambda_2 t_i}] + N_2^0 e^{-\lambda_2 t_i} \} / \lambda_2 \quad (3.2)$$

onde t_i é o tempo de irradiação.

Se para $t_i = 0$, $N_2^0 = 0$, ou seja, se não houver átomos radioativos N_2 no início da irradiação, tem-se a expressão simplificada:

$$N_2(t_i) = \phi \sigma_1 N_1^0 [1 - e^{-\lambda_2 t_i}] / \lambda_2 \quad (3.3)$$

que permite calcular o número de átomos de N_2 formados após um tempo de irradiação t_i , conhecendo-se ϕ , λ_2 , σ_1 e N_1^0 .

$$\text{Sabe-se que: } - dN / dt = \lambda N = D \quad (3.4)$$

onde D é o número de desintegrações radioativas por segundo e $A = zD = z\lambda N$

onde A é a atividade medida experimentalmente, que é uma fração de D e

z é o coeficiente de detecção, que depende da natureza do equipamento de detecção, da eficiência de detecção e do arranjo experimental adotado.

A equação (3.3), em termos de atividade será:

$$A_2 = z \lambda_2 N_2 = z \sigma_1 \phi N_1^0 [1 - e^{-\lambda_2 t_i}] \quad (3.5)$$

A expressão geral para o cálculo da atividade induzida após um tempo de irradiação t_i será a seguinte:

$$A = z \sigma N \phi [1 - e^{-\lambda t_i}] \quad (3.6)$$

Considerando: $z \sigma N \phi = P$

$$A / P = 1 - e^{-\lambda t_i} = 1 - e^{-0,693 t_i / t_{1/2}}$$

onde $t_{1/2}$ é a meia-vida do radioisótopo formado.

A atividade de saturação é a atividade máxima que pode ser produzida em um dado elemento, com um dado fluxo de partículas ativadoras.

O termo $(1 - e^{-\lambda t})$ na equação (3.5) é chamado de fator de saturação, S , cuja substituição nessa equação se obtém:

$$A = z \sigma N \phi S$$

À medida que a relação $t/t_{1/2}$ aumenta, S se aproxima da unidade e desta forma:

$$A = z \sigma N \phi$$

Como se quer calcular a massa de cada elemento na amostra, e não propriamente o número de átomos, deve-se substituir N pela equação:

$$N = N_{AV} m f / M$$

onde N_{AV} é o número de Avogadro;

m é a massa do elemento em gramas;

f é a abundância isotópica do nuclídeo alvo e

M é a massa atômica.

Para se obter a fórmula para o cálculo da atividade induzida em um dado elemento após um certo tempo de irradiação t_i :

$$A(t_i) = z \sigma \phi N_{AV} m f [1 - e^{-0,693t_i/t_{1/2}}] / M \quad (3.7)$$

onde A é a atividade medida, em contagem pelo tempo

($A = zD$; D é a taxa de desintegração em desintegrações por segundo); $A/3,7 \times 10^7$ fornece a atividade em milicuries;

z é a eficiência do detector;

σ é a secção de choque de ativação;

ϕ é o fluxo de nêutrons em $n \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$;

N_{AV} é o número de Avogadro = $6,023 \times 10^{23}$;

m é a massa do elemento irradiado, em gramas;

f é a abundância do nuclídeo alvo;

M é a massa atômica do elemento irradiado;

t_i é o tempo de irradiação e

$t_{1/2}$ é a meia-vida do radionuclídeo formado

Após um determinado tempo de decaimento t , a atividade do radioisótopo é dada, de acordo com a lei do decaimento, por:

$$A(t) = A(t_0) e^{-0,693t/t_{1/2}}$$

sendo, t_0 o tempo inicial, a partir do qual quer se avaliar a atividade do radioisótopo.

3.1.2 - Análise por ativação absoluta

Uma vez medida a atividade induzida, pode-se aplicar a equação (3.7) para o cálculo da massa m de um dado elemento

presente na amostra e desta forma é feita a análise por ativação absoluta. No entanto, é necessário conhecer alguns parâmetros, tais como: fluxo de nêutrons ϕ , secção de choque de ativação, tempo de irradiação, meias-vidas dos radioisótopos formados e eficiência do sistema de detecção.

Estes parâmetros nem sempre são bem definidos donde se conclui que este método não é conveniente na prática quando se requer uma análise de elementos com uma boa exatidão.

3.1.3 - Análise por ativação comparativa

A análise por ativação comparativa é o método mais comumente utilizado quando não se conhece com exatidão os diversos parâmetros da irradiação.

Nesse método, um padrão com uma quantidade conhecida m_p do elemento a ser determinado é irradiado juntamente com a amostra, durante um determinado tempo t_i e sob o mesmo fluxo ϕ de partículas ativadoras.

A partir da equação (3.7), tem-se para a atividade do radioisótopo na amostra $t=0$ a relação:

$$A_i = z \sigma \phi N_{AV} m_i f (1 - e^{-\lambda t_i}) / M \quad (3.8)$$

onde λ é a constante de decaimento igual a $0,693/t_{1/2}$, e

m_a é a massa do elemento na amostra a ser quantificado.

Para o padrão tem-se

$$A_p^0 = z \sigma \phi N_{AV} m_p f (1 - e^{-\lambda t_i}) / M \quad (3.9)$$

Dividindo (3.8) por (3.9) tem-se:

$$A_a^0 / A_p^0 = m_a / m_p$$

donde se pode obter:

$$m_a = A_a^0 \cdot m_p / A_p^0 \quad (3.10)$$

Sendo a amostra e o padrão medidos após um tempo de decaimento t_a e t_p respectivamente, as atividades ou taxas de contagens no tempo $t=0$ podem ser obtidas pelas relações:

$$A_a = A_a^0 e^{-\lambda t_a} \quad (3.11)$$

$$A_p = A_p^0 e^{-\lambda t_p} \quad (3.12)$$

onde A_a e A_p são as atividades nos tempos t_a e t_p , respectivamente.

Substituindo (3.11) e (3.12) em (3.10), tem-se:

$$m_i = A_i m_j e^{\lambda(t_i - t_j)} / A_j \quad (3.13)$$

Chamando de C_a a concentração do elemento na amostra tem-se, em termos de concentração:

$$C_a = A_a m_p e^{\lambda(t_a - t_p)} / A_p M_a \quad (3.14)$$

onde m_p é a massa do elemento no padrão;

M_a é a massa total da amostra;

A é a área do pico (taxa de contagem obtida no tempo de decaimento t);

t é o tempo de decaimento;

λ é a constante de decaimento

$$(\lambda = 0,693/t_{1/2}; t_{1/2} \text{ é a meia-vida});$$

os índices "a" e "p" se referem à amostra e ao padrão respectivamente.

A equação (3.14) foi utilizada no presente trabalho no cálculo de concentrações.

3.2 - Separação radioquímica utilizando trocadores inorgânicos e extração com solventes

Para eliminar ou reduzir os problemas de interferências na análise por ativação instrumental, diferentes técnicas de separação radioquímica são utilizadas.

Dentre estas técnicas destacam-se: troca iônica, precipitação, coprecipitação, extração com solventes, destilação e separação pelo uso de trocadores inorgânicos, entre outros.

Tais técnicas de separação permitem melhorar a estatística das contagens aumentando desta maneira a sensibilidade na análise de um determinado elemento bem como a precisão dos resultados. Além disso, a separação radioquímica permite remover os elementos interferentes sem ocasionar os erros analíticos decorrentes do branco dos reagentes e de outros tipos de contaminação.

As técnicas de separação química são empregadas para remover as interferências radioativas maiores ou para obter um espectro simples de um original excessivamente complexo.

As separações radioquímicas, em geral, envolvem as seguintes operações: transferência da amostra irradiada, adição de carregadores, dissolução da amostra, a separação dos radionuclídeos interferentes ou a do radionuclídeo de interesse e a determinação do rendimento químico.

O elemento traço ativado e o carregador deste elemento são convertidos para a mesma forma e estado de oxidação na etapa inicial da separação para que eles tenham comportamento químico idêntico ao longo do processo para a recuperação quantitativa.

A dissolução de amostras é uma das etapas mais importantes da separação. As amostras podem ser dissolvidas por meio de um ataque ácido ou pela fusão alcalina. Entretanto, para amostras biológicas, que é o caso deste trabalho, os processos de fusão não são empregados devido à possibilidade de perda de elementos e a adição de grandes quantidades de reagentes que podem interferir na separação subsequente. A dissolução de materiais biológicos é geralmente realizada usando um ácido ou misturas de ácidos, à quente, em sistemas abertos ou fechados, dependendo da volatilidade do elemento de interesse. Para se ter um sistema fechado de dissolução são utilizados béqueres de teflon com tampa, que são colocados em estufa ou em forno de microondas.

Os cuidados que devem ser tomados na dissolução de amostras biológicas irradiadas são: o uso direto do HClO_4 devido ao perigo de explosão e a realização de dissoluções em capelas com exaustão não apropriada devido à contaminação do meio com os elementos voláteis (como ^{82}Br , ^{76}As , etc) radioativos. Além disso para se ter um sucesso na separação radioquímica, a dissolução deve ser completa uma vez que os resíduos e colóides podem ainda conter o elemento de interesse.

A escolha de uma técnica de separação radioquímica depende de vários fatores, incluindo o tipo de amostra, natureza e número de elementos a serem isolados, do tipo e a extensão de interferências e o tempo disponível para

separação. Muitas vezes são utilizadas uma ou mais técnicas e os elementos são separados individualmente ou em grupos.

3.2.1 - Separação utilizando trocadores inorgânicos

A separação com o uso de trocadores pode ser feita empregando dois tipos de material: trocadores orgânicos e inorgânicos. Os trocadores orgânicos catiônicos ou aniônicos são polímeros que possuem cátions ou ânions na molécula sendo substituídos pelos íons da solução efluente. A extensão com a qual ocorre a troca depende de vários fatores como pH, afinidade e tamanho do íon a ser trocado, etc. Tais trocadores possuem seus mecanismos de retenção bem definidos.

Os trocadores inorgânicos são amplamente utilizados para separações na análise por ativação, uma vez que se trata de uma técnica relativamente simples e rápida, que permite a separação de uma grande série de elementos e apresenta uma grande versatilidade. Dentro desta versatilidade enumeram-se três que são mais significativas:

- dependendo das condições utilizadas no condicionamento do trocador pode-se ter variações com relação aos elementos que podem ser retidos e eluídos, aumentando deste modo a seletividade na separação. Além disso, o tipo e a concentração do ácido utilizado para o condicionamento do

trocador inorgânico podem influir no comportamento da retenção dos elementos.

- uma grande variedade de trocadores inorgânicos com comportamentos distintos em um mesmo meio são disponíveis, o que torna possível a separação de diferentes elementos presentes numa mesma solução utilizando colunas de troca em série;

- há uma grande variedade de trocadores inorgânicos, dentre eles: HMD (dióxido de manganês hidratado), HAP (pentóxido de antimônio hidratado), CuS, TDO (dióxido de estanho), etc.

A principal desvantagem da técnica utilizando trocador inorgânico é a baixa capacidade de retenção destes materiais possibilitando a análise de matrizes com teores de elementos da ordem de $\mu\text{g/g}$, e esta capacidade varia consideravelmente de um íon para outro. Quando a concentração de um determinado íon alcança o valor da saturação do trocador, o comportamento deste íon será diferente daquele apresentado quando presente em baixas concentrações. Além disso, devido à complexidade dos mecanismos de retenção torna-se difícil extrapolar dados obtidos sob certas condições experimentais a outras condições. Um dos inconvenientes da técnica está no fato de que os trocadores inorgânicos, em geral, não podem ser reutilizados e seu uso é muito restrito ao método de análise por ativação, isto é, os trocadores

inorgânicos não são muito utilizados associados a outros métodos de detecção dos elementos.

Sobre os mecanismos de retenção dos elementos nestes trocadores inorgânicos, convém salientar o trabalho de Melloni e Brandoni⁽⁴⁴⁾. Segundo estes pesquisadores os trocadores ou materiais inorgânicos podem reagir com os íons traço presentes numa solução por meio de inúmeros mecanismos de reação, tais como: troca isotópica, reações redox, precipitação, formação de cristais mistos por recristalização e troca iônica. Todos estes mecanismos podem contribuir em diferentes graus de retenção para diferentes íons numa mesma coluna de um dado material trocador em um experimento de adsorção-eluição. Portanto, para um determinado trocador inorgânico é difícil elucidar os mecanismos reais de retenção e descrevê-los pelas leis da química, pois variam com os vários tipos de reação, meio e concentrações. Convém lembrar que apesar de mecanismos diferentes participarem na retenção de um dado elemento, convencionou-se chamar os materiais com estas propriedades, genericamente, de trocadores inorgânicos, apesar de em certos casos a troca não ser o verdadeiro mecanismo de retenção.

O trocador inorgânico utilizado neste trabalho foi o dióxido de manganês hidratado (HMD) da Carlo Erba, Milão, Itália. Há diferentes formas estruturais deste trocador e dependendo da forma de preparação e temperatura de secagem, compostos hidratados e com composição não estequiométrica podem se formar. Segundo Bigliocca e colaboradores⁽⁴⁵⁾ a retenção dos íons na superfície do trocador HMD também ocorre

por meio de diversos mecanismos: adsorção, troca iônica, reação química, etc e o termo "adsorção" é utilizado para qualquer processo que produza uma fixação de uma espécie iônica dissolvida na superfície do MnO_2 .

Girardi e colaboradores⁽⁴⁶⁾ estudaram o comportamento de retenção de 65 elementos nos diversos trocadores inorgânicos utilizando traçadores radioativos. Por exemplo, para o caso da retenção no HMD foram utilizados meios como: HNO_3 0,1M à 65°C, HNO_3 1M, HNO_3 14M, $HClO_4$ 1M e HF 6M. O meio HNO_3 1M, foi adotado no presente trabalho. O comportamento dos trocadores inorgânicos foi estudado fazendo uma comparação com os resultados obtidos com os trocadores orgânicos Dowex1 e Dowex50. Na Fig.3.1 estão os resultados de retenção dos elementos no HMD previamente condicionado com HNO_3 1M.

Conforme a Fig.3.1 verifica-se que o Se fica retido no HMD juntamente com os elementos Ag, As, Cr, Ge, I, Mo, Nb, Pa, Sb, Sn e Ta. Já os elementos Ce, Hf, Ir, Mn, Os, P, W e Zr ficaram parcialmente retidos neste meio de HNO_3 1M e os elementos Au, Ba, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cu, Eu, Fe, Ga, Hg, In, Na, Ni, Np, Pd, Pt, Re, S, Sc, Sr, Tc, Y, Yb e Zn não ficaram retidos. Os elementos Cs, K, Rb e Ru não tiveram comportamento reprodutível.

Li	Be											B	C	N	O	F
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl
○														◐	○	○
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br
◑	○	○			●	◐	○	○	○	○	○	○	●	●	●	○
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I
◑	○	○	◐	●	●	○	◑		○	●	○	○	●	●		●
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At
◑	○		◐	●	◑	○	◑	◐	○	○	○					
Fr	Ra	Ac														

La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
	◐					○							○	
Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf					
		●		○										

- Completamente retido (acima de 99%)
- ◐ Parcialmente retido (a área preta é proporcional à quantidade retida).
- Completamente eluído (acima de 97%)
- ◑ Comportamento não reprodutível.

Figura 3.1 - Comportamento dos elementos na coluna de HMD em meio HNO₃ 1M⁽⁴⁰⁾.

A técnica de separação com trocadores inorgânicos é geralmente utilizada junto a outros métodos de separação para determinação de outros elementos de interesse da amostra. No presente trabalho, após a retenção do Se no HMD, foi realizada a separação do Hg pela técnica de extração com solventes.

3.2.2 - Extração com solventes

A extração com solventes (líquido-líquido) é uma técnica em que uma solução (usualmente aquosa) é colocada em contato com um segundo solvente (usualmente orgânico) imiscível com o primeiro, para transferir um ou mais solutos para o segundo solvente. Esta técnica de separação é considerada simples, limpa, prática e rápida. Na maioria dos casos a operação de extração é realizada sob agitação dos solventes em um funil de separação durante um tempo determinado.

Esta técnica é, geralmente, empregada na análise quantitativa de elementos para se separar um elemento (ou elementos) de interesse de outros elementos interferentes presentes numa amostra. Além disso, ela permite que os elementos interferentes sejam extraídos seletivamente e pode ser utilizada para concentrar uma espécie que esteja diluída demais para ser detectada.

O princípio fundamental para a extração com solventes de um determinado elemento se resume na determinação do parâmetro coeficiente de distribuição ou partição. Para um dado soluto A distribuído entre duas fases imiscíveis a e b, a lei de distribuição ou da partição de Nernst estabelece que desde que o estado molecular seja o mesmo em ambos os líquidos e se a temperatura se mantém constante, pode-se definir um parâmetro K_d expresso por:

$$\frac{\text{Concentração do soluto no solvente a}}{\text{Concentração do soluto no solvente b}} = [A]_a / [A]_b = K_d$$

onde K_d é uma constante conhecida como coeficiente de distribuição. Esta lei fundamental não é termodinamicamente rigorosa, mas é muito útil porque nos permite ter uma idéia da fração do soluto total presente em outra fase, quase sem levar em consideração se há a dissociação, associação ou interação com outras espécies dissolvidas.

Os sais inorgânicos hidratados tendem a ser mais solúveis em água do que em solventes orgânicos como o benzeno, clorofórmio, etc, enquanto que complexos orgânicos tendem a ser mais solúveis em solventes orgânicos do que em água, a menos que estas substâncias orgânicas se incorporem em um número suficiente de grupamentos hidroxila, sulfônico ou outros hidrofílicos.

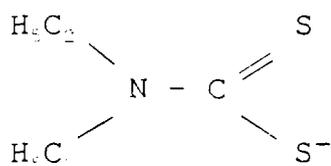
A análise de metais por extração com solvente, é um dos métodos pelos quais a solubilidade de cátions inorgânicos

em água pode ser mascarada pela interação com reagentes apropriados (orgânicos); isto é, há a remoção de algumas ou todas as moléculas de água associadas ao íon metálico.

A princípio não haveria extração de compostos orgânicos das fases aquosas para solventes orgânicos, devido à grande perda de energia de solvatação eletrostática. O modo mais racional de tornar uma espécie iônica da fase aquosa extraível é neutralizar a sua carga. Isto pode ser feito pela formação de um complexo quelato metálico neutro ou por associação iônica; quanto maior e mais hidrófoba for a molécula resultante, melhor será a sua extração.

3.2.2.1 - Extração do mercúrio pelo dietilditiocarbamato de bismuto

No presente trabalho para a extração do mercúrio utilizou-se a solução de dietilditiocarbamato de bismuto em clorofórmio. O ânion dietilditiocarbamato (DDC) com a fórmula:

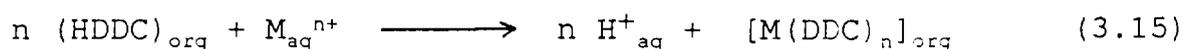


forma complexos extraíveis em solventes orgânicos para muitos elementos. Entretanto, pode se alcançar uma boa seletividade

na separação de vários metais pela escolha do pH e/ou pela adição de agentes mascarantes. O dietilditiocarbamato se decompõe rapidamente em soluções aquosas ácidas, isto é, o pH do meio não deve ficar muito abaixo de 5. Entretanto, este problema pode ser facilmente contornado pelo uso do reagente dissolvido na fase orgânica e além disso, o equilíbrio da extração de seus complexos são estabelecidos muito rapidamente.

Wytttenbach e Bajo⁽⁴⁷⁾ estudaram o comportamento da extração de quatorze elementos com DDC visando o uso deste complexante nas separações químicas.

A extração de metais (M^{n+}) com ácido dietilditiocarbâmico (HDDC) no solvente orgânico pode ser expressa pela seguinte reação:



onde os índices aq e org indicam as espécies na fase aquosa e orgânica, respectivamente.

A constante de extração K da reação de equilíbrio (3.15) pode ser definida como sendo:

$$K = [M(\text{DDC})_n]_{\text{org}} \cdot [\text{H}^+]_{\text{aq}}^n / [M^{n+}]_{\text{aq}} \cdot [\text{HDDC}]_{\text{org}}^n \quad (3.16)$$

As constantes de extração dos complexos de metais com DDC decrescem na seguinte sequência⁽⁴⁸⁾:

$Au^{3+} > Pd^{2+} > Hg^{2+} > Ag^+ > Bi^{3+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Pb^{2+} > In^{3+} > Sb^{3+} > Cd^{2+} > As^{3+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Fe^{2+} > Tl^+$.

Para se obter extrações seletivas de determinados metais pesados são utilizados complexos de dietilditiocarbamatos de metais ($M(DDC)_n$) no lugar do ácido dietilditiocarbâmico (HDDC). No presente trabalho utilizando o complexo $Bi(DDC)_3$, os metais tais como Au, Pd, Hg e Ag cujas constantes de extração são maiores que aquela do Bi^{3+} , são extraídos em clorofórmio. Por outro lado metais como Cd, Zn, Co, Fe e outros não são extraídos porque as constantes de extração de seus compostos com DDC são menores que a do $Bi(DDC)_3$. Além disso, os elementos alcalinos, alcalinos terrosos e halogênios que não formam complexos com DDC são também eliminados. Este fato permite que a extração com $Bi(DDC)_3$ isole diferentes elementos como Au, Pd, Hg e Ag.

A extração do Hg^{2+} usando $Bi(DDC)_3$ dissolvido em clorofórmio também foi estudada por Wyttenbach e Bajo⁽⁴⁷⁾. Neste trabalho o Hg^{2+} presente numa solução de H_2SO_4 0,1M é completamente extraído com $Bi(DDC)_3$ dissolvido em clorofórmio dentro de 2 minutos de agitação, assim como a Ag^+ . Já o Cu^{2+} é extraído em 15 minutos conforme mostra a Fig.3.2.

Esta extração do Hg usando $Bi(DDC)_3$ é possível devido ao fato de que a constante de extração do bismuto com DDC é baixa quando comparada com a do mercúrio, porém mais alta que a maioria dos metais tais como: Ni, Cu, Fe e outros.

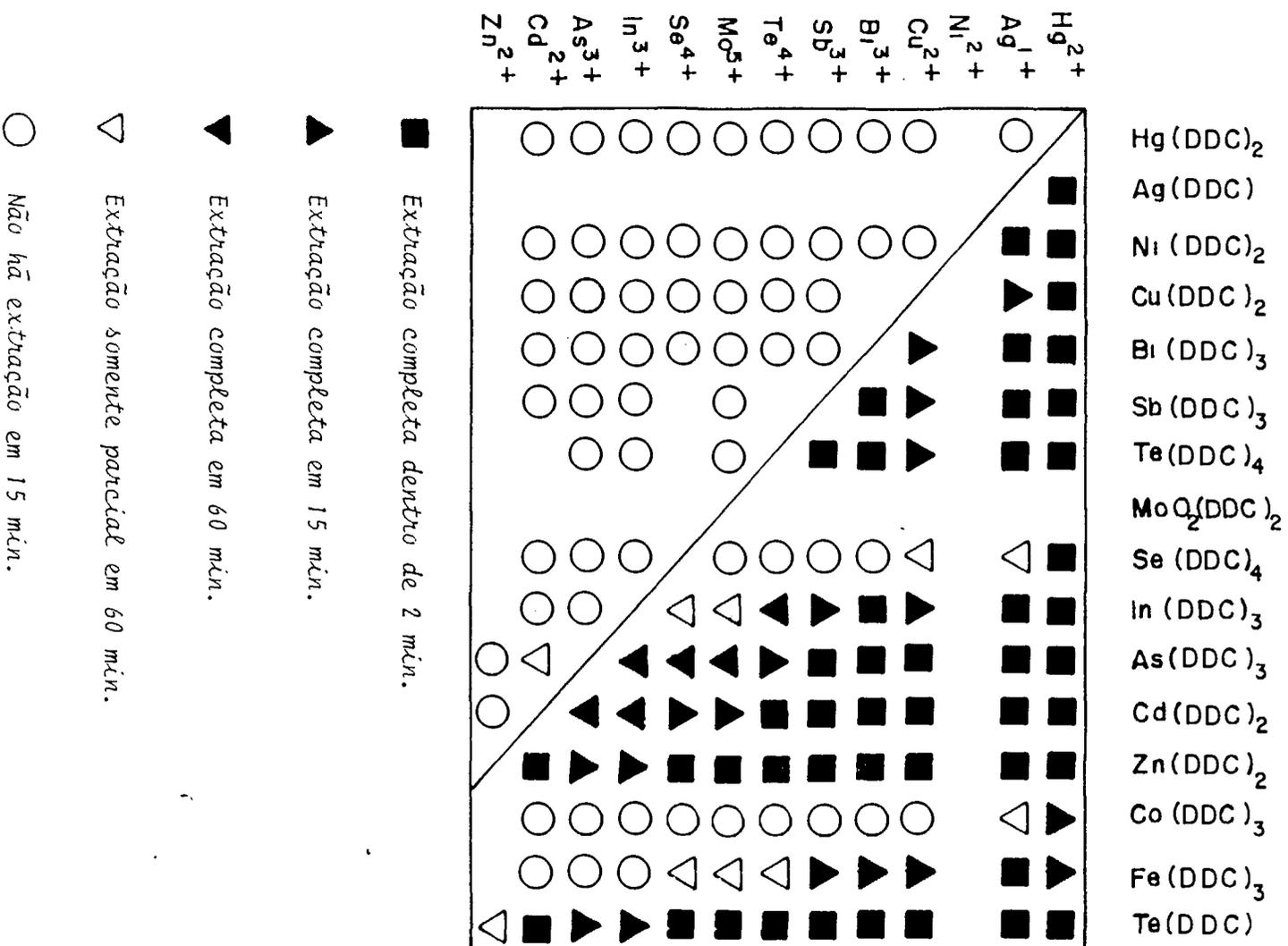


Figura 3.2 - Comportamento da extração de elementos com o complexante DDC em cloroformio⁽¹⁷⁾.

As constantes de extração (K) para o Hg^{2+} e para o Bi^{3+} são respectivamente⁽⁴⁹⁾:

$$K_{\text{Hg}^{2+}} = 10^{54}$$

$$K_{\text{Bi}^{3+}} = 10^{11}$$

Conforme mostra a Fig.3.2 e pelas constantes de extração a Ag^+ também poderiam ser extraídos pelo $\text{Bi}(\text{DDC})_3$, entretanto, no caso da análise de extratos medicinais, estes dois elementos, se presentes, estão em baixíssimas concentrações para causar interferências na análise.

Já para o caso do Cu^{2+} este elemento poderia ser parcialmente extraído pelo $\text{Bi}(\text{DDC})_3$ devido à sua constante de extração ser próxima à o Bi^{3+} . Nas amostras analisadas no presente trabalho não foram detectados os fotopicos de ^{64}Cu uma vez que o processamento das separações foi realizado após cerca de 15 dias de decaimento e o ^{64}Cu apresenta uma meia-vida relativamente curta de 12,7h.

3.2.2.2 - Influência do pH na extração de mercúrio com dietilditiocarbamato de bismuto

A influência do pH na extração do Hg^{2+} pelo $\text{Bi}(\text{DDC})_3$ em clorofórmio foi estudada por Yu e colaboradores⁽⁴⁹⁾ e está mostrada na Fig.3.3.

Na faixa de pH entre 0,3 e 1,0 a extração do Hg é total. Em soluções de pH menores que 0,3 a extração não é prática devido à decomposição acelerada do complexo de DDC em meio ácido. Em pH maior que 1,0 a eficiência da extração diminui e em pH 2 somente 50% do mercúrio é recuperado.

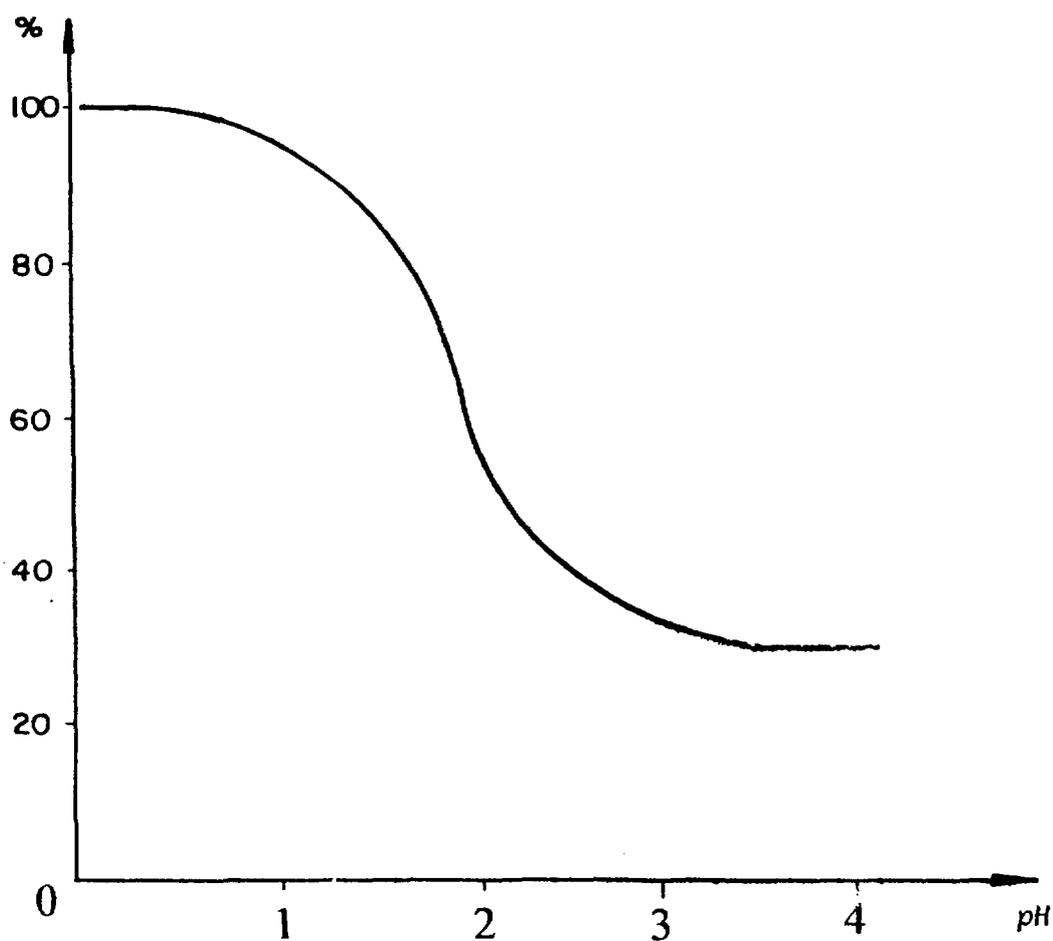


Figura 3.3 - Relação entre o pH e a porcentagem de recuperação do mercúrio pelo $\text{Bi}(\text{DDC})_3$ ⁽⁴⁹⁾.

CAPÍTULO 4

PARTE EXPERIMENTAL

Este Capítulo será dividido em duas partes.

Na primeira parte será descrito sobre o procedimento experimental da análise instrumental por ativação com nêutrons aplicado à análise de extratos de plantas medicinais e em materiais biológicos de referência. Serão apresentados também os ensaios preliminares realizados para o estabelecimento das condições da análise. Pelo método instrumental de análise por ativação são determinados os elementos: Al, Br, Ca, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc e Zn.

Na segunda parte, serão abordados sobre a parte experimental da análise por ativação do mercúrio e selênio com separação radioquímica.

4.1 - Análise por ativação com nêutrons instrumental

4.1.1. Equipamentos utilizados

Foram utilizados três sistemas de contagens para a espectrometria de raios gama:

- Sistema no. 1: constituído de um detector de Ge hiperpuro da marca ENERTEC acoplado a um analisador de raios gama de 4096 canais da EG & G ORTEC - modelo 7450 conectado a um microcomputador Nyda 200 Plus da Monydata da linha IBM/PC e eletrônica associada. A resolução deste sistema de contagem no FWHM ("Full Width of Half Maximum") foi de 1,15 keV para o fotopico de 122 keV do ^{57}Co e de 2,5 keV para o fotopico de 1332 keV do ^{60}Co .

Sistema no. 2: constituído de um detector de Ge hiperpuro modelo GMX20190 da EG & G ORTEC acoplado ao módulo ADCAM 918A, a um microcomputador ATG da linha IBM/PC e eletrônica associada. Este sistema apresentou resolução de 0,9 keV para o fotopico de 122 keV do ^{57}Co e de 1,84 keV para o fotopico de 1332 keV do ^{60}Co .

Sistema no. 3: constituído de um detector de Ge hiperpuro modelo GEM20190P EG & G ORTEC série POP TOP acoplado a um cartão ACE 4K, a um microcomputador ATG da linha IBM/PC e eletrônica associada. A resolução deste sistema de contagem

foi de 1,48 keV para o fotopico de 122 keV do ^{57}Co e de 2,23 keV para o fotopico de 1332 keV do ^{60}Co .

A escolha entre os sistemas de contagens acima descritos foi feita levando-se em consideração a sensibilidade do equipamento em relação a detecção dos elementos de interesse, a complexidade de espectros gama bem como a sua disponibilidade na ocasião da medida.

Para verificar o funcionamento dos equipamentos de contagens foram feitos diariamente testes que consistiam basicamente em realizar medidas de fontes calibradas de ^{57}Co e ^{60}Co e verificar a precisão nos valores das taxas de contagens e energias dos raios gama.

Foram utilizados também os seguintes equipamentos:

- balança analítica Mettler com a precisão de $5 \cdot 10^{-5}\text{g}$;
- aparelho de quartzo para destilação da água deionizada.

4.1.2. Preparação dos padrões sintéticos dos elementos

Inicialmente foram preparadas soluções padrões de Al, Br, Ca, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc e Zn dissolvendo os elementos segundo as condições descritas na Tabela 4.1. A concentração de cada elemento na solução

estoque se encontra na mesma Tabela. A água utilizada na diluição foi aquela previamente destilada em aparelho de quartzo e todos os reagentes foram de grau p.a. ou espectrograficamente puros.

A partir das soluções padrões estoques foram preparadas soluções padrões mais diluídas contendo um ou mais elementos. As soluções padrões mistas foram obtidas levando-se em conta a meia-vida dos radioisótopos a serem medidos, o problema de interferências espectrais e a estabilidade da solução. As soluções padrões foram guardadas em frascos de polietileno. Cerca de 50 a 100 microlitros destas soluções padrões foram pipetados sobre tiras de papel de filtro Whatman no. 42, com as dimensões aproximadas de 3cm x 1cm, as quais foram secas num dessecador à temperatura ambiente. Após a secagem estas tiras de papel foram dobradas e colocadas em invólucros plástico para irradiação no reator. Os plásticos utilizados na confecção destes invólucros foram previamente limpos com solução diluída de ácido nítrico p.a. 1:3 e água destilada. As massas dos elementos dos padrões sintéticos também estão na Tabela 4.1. O ideal seria utilizar os padrões com as quantidades dos elementos similares às da amostra. Entretanto, utilizaram-se padrões com quantidades de elementos maiores que aquelas contidas em cerca de 100 mg da amostra para evitar o uso de soluções padrões muito diluídas. Nas soluções diluídas, a ocorrência da perda dos elementos por adsorção nas paredes dos recipientes e, ou o problema de contaminação da solução poderia alterar a concentração do

TABELA 4.1 - Dados para o preparo das soluções padrões.

Elemento	Composto utilizado	Modo de dissolução	Conc. elem. sol.estoque mg/ml	µg do elem. pad. sintético
Al	metal. (GF)	HNO ₃ à quente	10,00	100,0
Br	KBr (CE)	água	1,077	4,1
Ca	CaO (ACC)	HNO ₃ à quente	20,10	1004,9
Ce	CeO ₂ (JMC)	calc.800°C, diss.com HNO ₃ +HClO ₄	0,980	1,96
Cl	NaCl (Merck)	calc. à 800°C; diss. com água	10,02	154,3
Co	metál.(ACC)	HNO ₃ à quente	552 µg/ml	0,110
Cr	metál.(JMC)	HF+H ₂ SO ₄ à quente	7,794	1,56
Cs	CsCl (Merck)	água	1,048	0,524
Fe	metál.(ACC)	água régia	11,41	228,2
K	KNO ₃ (CE)	água e uma gota HNO ₃	10,00	500
La	La ₂ O ₃ (BDH)	calc.800°C; diss.c/HNO ₃ e água	1,006	0,151
Mg	MgO (CT)	HNO ₃ à quente	20,02	1001
Mn	MnO ₂ (JMC)	HNO ₃ , gotas de H ₂ O ₂ aquecimento	827,8 µg/ml	3,311
Na	NaCl (Merck)	calc.800°C/2h; diss.c/água	6,497	64,97
Rb	RbCl (JMC)	água	1,088	4,348
Sb	metál.(JMC)	HNO ₃ + HF	4,142	0,4142
Sc	Sc ₂ O ₃ (JMC)	calc.800°C; diss.HNO ₃ conc.	1,187	0,0595
Zn	metál (JMC)	HNO ₃ à quente	7,900	31,60

ACC - Aldrich Chemical Company

BDH - British Drug Houses Limited

CE - Carlo Erba

CT - Chimie Test

GF - Goodfellow

JMC - Johnson Matthey Chemical Company

elemento na solução padrão ocasionando erros na análise. Além disso, o uso de padrões com as quantidades dos elementos maiores que as da amostra permitiu a redução do tempo de contagem do padrão e, conseqüentemente, o tempo de análise. Porém, na análise por ativação não se pode aumentar indefinidamente a quantidade do elemento no padrão, visto que a alta atividade induzida poderá impedir a realização das medidas, devido ao problema de saturação do detector.

4.1.3. Extratos das plantas medicinais

No Capítulo 2 foi descrito sobre as características das plantas medicinais utilizadas neste trabalho.

Os extratos das plantas medicinais utilizados foram fornecidos pelo Instituto de Ciências Biomédicas do Departamento de Farmacologia da Universidade de São Paulo. Estes extratos foram obtidos usando uma solução alcoólica 70% na maioria dos casos à temperatura ambiente conforme descrito na Farmacopéia Brasileira⁽⁵⁰⁾ e depois liofilizados. No caso do *Solano lycocarpum* a concentração da solução alcoólica foi 65% e para o *Zingiber officinale* Roscoe utilizou-se acetona p.a. Estes diferentes solventes foram utilizados para extrair substâncias de interesse farmacológico das plantas no extrato.

4.1.4. Estabelecimento de condições adequadas para análise por ativação instrumental

Irradiações curtas

Foram feitas duas irradiações preliminares no reator nuclear IEA-R1 usando cerca de 100 mg da amostra de um extrato de planta medicinal escolhido aleatoriamente para escolha de tempos de irradiação adequados para análise, sendo uma de 3 e outra de 30 minutos sob um fluxo de nêutrons de $2,67 \times 10^{11} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Foram feitas, na amostra irradiada por 3 minutos, medidas em diferentes tempos de decaimento de 3, 6, 10, 20 e 40 minutos para identificação dos radioisótopos pela meia-vida. Na irradiação de 30 minutos, a amostra foi medida após 5 e 24 horas de tempos de decaimento.

Por meio destas séries de irradiações concluiu-se que a ativação de 3 minutos permite a determinação de Al, Cl, K, Mg, Mn, Na e V um número maior de elementos que a irradiação de 30 minutos, que permitiu somente a detecção de Br, Cl, Mn e Na.

Na irradiação de 30 minutos a interferência da alta atividade induzida aos elementos como Cl, Mn e Na impediu a realização da medida da amostra logo após a irradiação.

Irradiações longas

Para análise de um número maior de elementos adotou-se para as irradiações longas um tempo de irradiação de 16 h e fluxo de 10^{13} n.cm⁻².s⁻¹. Também foi testada irradiação por um período de 8 h, mas o número de elementos possíveis de serem determinados foi menor. Somente para o caso da análise do extrato da *Citrus aurantium* L. (laranja amarga) foi realizada irradiação de 8h para evitar o vazamento desta amostra através do plástico.

O plástico utilizado para a confecção dos invólucros foi previamente analisado e verificou-se que as impurezas nela presentes não interferem na análise. As amostras foram medidas no próprio invólucro utilizado para irradiação.

4.1.5. Procedimento para análise de extratos de plantas medicinais pelo método de ativação com nêutrons instrumental

Cerca de 80 a 150 mg de cada amostra de extrato na forma de pó seco foram pesados em envelopes de plástico de cerca de 2cm x 2cm previamente limpos com ácido nítrico diluído e água destilada e foram irradiados no reator nuclear IEA-R1 juntamente com os padrões sintéticos dos elementos a serem analisados preparados conforme descrito no item 4.1.2.

Cada um dos envelopes foi envolto em folhas de alumínio no caso das irradiações longas. Em cada irradiação foram irradiadas de três a quatro amostras as quais foram colocadas com os padrões dentro de um dispositivo ou "coelho" de alumínio para irradiações longas e "coelho" de polietileno no caso das irradiações curtas. Os invólucros de alumínio que continham as amostras e os padrões, após a irradiação foram removidos e substituídos por novos invólucros de alumínio e fixados em pranchetas de aço inoxidável de cerca de 3 cm de diâmetro para posterior medida no detector. As medidas (contagens) foram feitas no detector de Ge hiperpuro e os tempos de contagens foram de 180 segundos e de 10 minutos para o caso das amostras submetidas à irradiações curtas e de 20 000 a 50 000 segundos para o caso das irradiações longas. Os espectros de raios gama foram processados usando o programa de computação VISPENB2. Este programa nos fornece a área dos picos (taxas de contagens) e a energia dos radioisótopos formados, que foram identificados pelas meias-vidas e energias dos raios gama consultando a Tabela de energia de raios gama e meias-vidas⁽⁵¹⁾. Os radioisótopos identificados para cada condição de irradiação e para diferentes tempos de decaimento para contagem e as energias dos raios gama medidos se encontram na Tabela 4.2.

Tanto as análises dos extratos medicinais como dos materiais de referência foram realizadas em réplicas para o exame da precisão dos resultados.

TABELA 4.2 - Condições de irradiação e radioisótopos usados na análise por ativação instrumental.

Tempo de irradiação	ϕ de nêutrons térmicos ($n \cdot cm^{-2} \cdot s^{-1}$)	Tempo de decaimento	Radioisótopos (energia dos raios gama em keV), $t_{1/2}$ (51)
3 min	$2,67 \times 10^{11}$	3 min e 120 min	^{28}Al (1778,99) 2,24min
			^{38}Cl (1642,69) 37,24min
			^{27}Mg (1014,43) 9,46min
			^{56}Mn (1810,72) 2,58h
			^{24}Na (1368,60) 14,86h
			^{42}K (1524,58) 12,36h
16 horas	10^{13}	5 dias e 14 dias	^{82}Br (776,52/554,35) 35,3h
			^{47}Ca (1297,09) 4,54d
			^{141}Ce (145,44) 32,5d
			^{60}Co (1173,24) 5,27a
			^{51}Cr (320,08) 27,7d
			^{134}Cs (795,85) 2,06a
			^{59}Fe (1099,25/1291,60) 44,5d
			^{42}K (1524,58) 12,36h
			^{140}La (1596,21) 40,27h
			^{24}Na (1368,60) 14,96h
			^{86}Rb (1076,60) 18,66d
			^{123}Sb (564,24) 2,70d
			^{44}Sc (839,28) 83,81d
^{65}Zn (1115,55) 243,9d			

4.1.6. Análise dos materiais de referência

Foram analisados empregando as condições experimentais idênticas às da análise dos extratos medicinais, os seguintes materiais de referência: Pepperbush no. 1 do National Institute for Environmental Studies (NIES) do Japão e Citrus Leaves 1572 do National Institute of Standard and Technology (NIST) dos USA, para avaliar a exatidão do método. Para expressar as concentrações na base seca, porções de cerca de 500 mg destes materiais foram secos conforme procedimento descrito nos seus certificados^(52,53): para o Pepperbush no. 1 a secagem foi por um período de 4 horas à 85°C e para o Citrus Leaves 1572 a secagem foi por 2 horas à 85°C. No caso do material Pepperbush a porcentagem média de perda de peso foi de 5,7% e no caso do Citrus Leaves obteve-se uma perda média de 6,5%. Estes valores de perda foram utilizados para o cálculo das concentrações dos elementos na base seca do material. Esta determinação de perda de peso foi realizada em quatro réplicas em intervalos de seis meses para o exame destes dados no decorrer do tempo.

4.2 - Análise de mercúrio e selênio pelo método de separação radioquímica

4.2.1. Equipamentos utilizados

- Sistema no. 1: constituído de um detector de Ge hiperpuro modelo GEM20190P EG & G ORTEC série POP TOP acoplado a um cartão ACE 4K, a um microcomputador ATG da linha IBM/PC e eletrônica associada. A resolução deste sistema de contagem foi de 1,48 keV para o fotopico de 122 keV do ^{57}Co e de 2,23 keV para o fotopico de 1332 keV do ^{60}Co .

- Centrífuga para separação do dióxido de manganês hidratado (HMD) do sobrenadante.

- Medidor digital de pH da marca Hellige para medidas entre 0 e 14.

- Estufa para dissolução das amostras (30 a 300°C).

4.2.2. Materiais e reagentes

- Trocador inorgânico dióxido de manganês hidratado (HMD) proveniente da Carlo Erba

- Colunas de polietileno da Carlo Erba com diâmetro interno de 7 mm e reservatório para 15 ml

- Béquer de Teflon com 8 cm de altura e diâmetro de 3,5 cm com tampa rosqueável para dissolução de amostras

- Ampola de quartzo com 8 mm de diâmetro e 2 cm de altura
 - Ácido nítrico 65% d=1,4 g/ml p.a. da Merck
 - Ácido fosfórico 85% d=1,7 g/ml p.a. da Merck
 - Dietilditiocarbamato de sódio trihidratado (NaDDC.3H₂O) p.a. da Riedel de Hãen
 - Nitrato de bismuto pentahidratado Bi(NO₃)₃.5H₂O p.a. da Vetec Química Fina Ltda.
 - Clorofórmio (CHCl₃) p.a. da Merck
 - Ácido fosfórico p.a. 85%, d=1,7 g/ml da Merck
 - Nitrato de mercúrio p.a. da Merck
 - Selênio metálico em pó p.a. da B.Herzog
 - Óxido de mercúrio (HgO) 99,999% de pureza da Aldrich Chemical Company, Inc. USA
 - Álcool etílico p.a. Merck
 - conta-gotas de plástico para remoção do sobrenadante.
- Estes conta-gotas foram reutilizados após a sua lavagem com solução de ácido nítrico diluído.

Todos os materiais de vidro utilizados para a realização dos experimentos foram rigorosamente limpos, deixando-os por pelo menos um dia em detergente, dois dias em ácido nítrico diluído 1:3 e enxaguando-os com água deionizada, para evitar a contaminação na análise subsequente.

4.2.3. Soluções utilizadas e condicionamento do trocador inorgânico de dióxido de manganês hidratado

- Preparação da solução de traçador de ^{75}Se e ^{203}Hg

Estas soluções foram utilizadas na determinação dos rendimentos da separação radioquímica. Para preparação da solução traçador de ^{75}Se foram irradiados cerca de 23 mg de selênio metálico por 24 horas sob fluxo de nêutrons de 10^{13} n.cm⁻².s⁻¹. O Se irradiado foi transferido quantitativamente para um béquer, onde depois foi dissolvido com gotas de ácido nítrico concentrado à quente e o excesso do ácido foi eliminado por aquecimento e posteriormente transferido a um balão volumétrico de 25 ml, previamente calibrado. Obteve-se desta forma uma solução com a concentração de 916,5 µg de Se/ml após a sua diluição com água destilada.

- Preparação da solução de traçador de ^{203}Hg

Para a preparação do traçador de ^{203}Hg , foram irradiados por 16 horas cerca de 55 mg de nitrato de mercúrio de procedência da Merck em uma ampola de quartzo sob fluxo de nêutrons de 10^{13} n.cm⁻².s⁻¹. Após a irradiação o sal foi transferido quantitativamente a um béquer e dissolvido com ácido nítrico diluído (1:3). A solução foi transferida à um balão volumétrico de 25 ml, previamente calibrado, e diluída com água destilada, obtendo-se uma solução de 1,3 mg de Hg/ml.

- Preparação das soluções de carregador de selênio e mercúrio

Estas soluções de carregador foram utilizadas no processamento radioquímico para eliminar o problema de perdas destes elementos por adsorção, evaporação, etc.

A solução carregador de selênio (473 $\mu\text{g/ml}$) foi preparada a partir da solução padrão de concentração 1,1832 mg/ml preparada dissolvendo Se metálico com ácido nítrico à quente. Desta forma obteve-se uma solução 472,96 μg de Se/ml.

A solução carregador de mercúrio foi preparada diluindo-se a solução padrão de concentração 1,036 mg/ml, que foi preparada dissolvendo HgO (óxido de mercúrio) com ácido nítrico concentrado à frio. A concentração da solução obtida foi de 414,5 μg de Hg/ml.

- Preparação do complexante dietilditiocarbamato de bismuto

O complexante dietilditiocarbamato de bismuto utilizado como agente extrator do mercúrio na separação radioquímica, foi obtido por meio de precipitação usando a solução aquosa de nitrato de bismuto dissolvido em ácido nítrico e água (solução 5M) com solução de dietilditiocarbamato de sódio dissolvido em água conforme descrito por Wyttenbach e Bajo⁽¹⁾. O precipitado de Bi(DDC) , formado filtrado num funil de Büchner foi lavado com água e seco. Em seguida o precipitado foi dissolvido em clorofórmio e foi feita a adição de álcool etílico p.a. na mesma quantidade

de clorofórmio utilizada na dissolução. A evaporação da solução de clorofórmio mais álcool etílico e a obtenção do $\text{Bi}(\text{DDC})_3$ cristalizado foi realizada à temperatura ambiente numa capela por um período de 7 dias. Os cristais foram filtrados num funil de Büchner e secos à temperatura ambiente. O sal assim preparado foi guardado no dessecador.

- Preparação das soluções padrões de selênio e mercúrio

A solução padrão de selênio foi preparada a partir do selênio metálico em pó. O metal foi dissolvido com ácido nítrico concentrado à frio, transferido a um balão volumétrico de 25 ml previamente calibrado e diluído com água destilada de modo a se obter uma solução final com 141,98 μg de Se/ml.

A solução padrão de mercúrio foi preparada dissolvendo óxido de mercúrio (HgO) com ácido nítrico concentrado à frio e fazendo a diluição a 25 ml com água destilada. A concentração final da solução foi 41,44 μg de Hg/ml. Para a determinação quantitativa do Hg é necessário que a solução padrão seja preparada com cuidado e acondicionada em frasco de vidro, uma vez que o Hg é adsorvido em plástico e sua perda é uma função exponencial com o tempo⁽⁵⁴⁾. Acondicionou-se esta solução padrão de Hg na geladeira para evitar eventual perda por volatilização deste elemento e foi acidificada com ácido nítrico para diminuir as perdas por adsorção nas paredes dos frascos.

- Preparação da solução de ácido nítrico 1M

Para preparação desta solução foi feita a diluição de 69,2 ml do ácido nítrico concentrado 1,4 g/ml, 65% para 1000 ml com água destilada.

- Preparação da solução de ácido fosfórico 1M

Para preparação desta solução foi feita a diluição de 68,2 ml do ácido fosfórico concentrado 1,7 g/ml, 85% para 1000 ml com água destilada.

- Preparação da solução mistura ácido fosfórico 1M e ácido nítrico 1M

Para preparação desta solução, dilui-se 68 ml do ácido fosfórico concentrado e 68,2 ml do ácido nítrico concentrado até completar o volume de 1000 ml com água destilada.

- Preparação da solução mistura ácido fosfórico 0,0025M e ácido nítrico 1M

Para preparação de 500 ml desta solução dilui-se 85 µl de ácido fosfórico concentrado e 34,1 ml de ácido nítrico com água destilada.

- Condicionamento do trocador inorgânico dióxido de manganês hidratado (HMD)

O HMD foi previamente colocado em contato com água e posteriormente com a solução de ácido nítrico 1M para eliminar as suas partículas finas (menor granulometria) por meio das operações de decantação e eliminação do sobrenadante. Em

seguida o HMD foi mantido na solução de ácido nítrico 1M por pelo menos uma noite antes de ser transferido para a coluna de polietileno da Carlo Erba. Antes de passar a solução amostra por esta coluna de HMD foram percoladas duas porções de 15 ml de ácido nítrico 1M, seguida de percolação de 15 ml de uma solução contendo mistura de ácido nítrico 1M e ácido fosfórico 1M e novamente com 15 ml de ácido nítrico 1M. A vazão da solução pela coluna foi ajustada compactando o HMD com o auxílio de uma bagueta para os valores entre 0,25 e 0,5 ml/min, nesta última etapa de percolação da solução de ácido nítrico 1M. O propósito do uso do ácido fosfórico no condicionamento do HMD foi preencher todos os sítios do trocador com íons fosfato de maneira a reduzir a retenção do interferente ^{32}P da solução amostra.

4.3. Procedimento para análise de mercúrio e selênio por meio da separação radioquímica

4.3.1. Estabelecimento das condições experimentais adequadas para a separação radioquímica

Inicialmente, verificou-se que uma massa da amostra de cerca de 200 mg é adequada para a detecção dos radioisótopos dos elementos de interesse Hg e Se. O tempo de irradiação também foi fixado em 16 horas. Foram também feitos testes para estabelecer as condições para a dissolução da

amostra em um sistema fechado à 100°C numa estufa por 8h abaixo relacionados:

a) usando 5 ml de ácido nítrico concentrado e 3 gotas de peróxido de hidrogênio obteve-se a amostra inteiramente dissolvida, entretanto ao percolar a solução amostra pela coluna do trocador de HMD ocorreu a formação de bolhas de ar e uma conseqüente diminuição da vazão.

b) usando somente os 5 ml do ácido nítrico concentrado a dissolução da amostra foi completa, mas também nesse caso houve a redução da vazão, tornando o processo bastante lento.

c) a dissolução usando cerca de 3 ml de ácido nítrico concentrado e 2 ml de água destilada tornou o ataque da amostra completo e a vazão da coluna de HMD foi mantida.

O tempo de decaimento também foi escolhido levando-se em consideração o decaimento dos interferentes. Antes dos 15 dias verificou-se que há interferência devido à alta atividade do ^{82}Br , ^{24}Na e ^{32}P .

4.3.2. Procedimento para a separação radioquímica

Foram pesados 150 a 250 mg do material em ampola de quartzo e irradiados com os padrões de selênio e mercúrio,

também colocados em ampolas de quartzo, no reator nuclear de pesquisa IEA-R1 por 16 horas sob fluxo de nêutrons de 10^{13} n.cm⁻².s⁻¹. Estas ampolas foram criteriosamente limpas, pelo tratamento durante 3 dias com ácido nítrico diluído 1:3 e depois lavando-as com água deionizada. Além disso, foi verificado que não há contaminação da amostra pela desorção dos elementos da ampola fazendo a contagem de uma solução de HNO₃ diluída irradiada na ampola. Após cerca de 15 dias de tempo de decaimento a amostra foi transferida para um béquer de Teflon onde foram adicionados 3 ml de ácido nítrico concentrado, 2 ml de água destilada, 50 µl da solução carregador de mercúrio e 50 µl da solução carregador de selênio. Esta mistura foi dissolvida em um sistema fechado também conhecido como béquer de Teflon, numa estufa à aproximadamente 100°C por um período de pelo menos 8 horas. Após a dissolução, foi feita diluição da amostra dissolvida usando água destilada até completar o volume para cerca de 15 ml. Esta solução amostra foi percolada pela coluna contendo trocador inorgânico HMD previamente tratado.

- Retenção do selênio na coluna de HMD

Passou-se a solução amostra pela coluna e depois realizaram-se as lavagens consecutivas usando duas porções de 15 ml cada, da solução contendo ácido nítrico 1M e ácido fosfórico 0,0025M. O trocador HMD com ⁷⁵Se retido foi transferido para um frasco de cintilação e submetido à centrifugação. O sobrenadante foi removido com um conta-gotas e descartado. O selênio retido no HMD foi medido no detector

de Ge hiperpuro a uma distância de 3 cm do detector pela contagem do ^{75}Se de energia 264 keV.

- Extração do mercúrio

O pH da solução efluente da coluna do HMD foi ajustado entre os valores 0,3 e 1,0, onde se garante que ocorre a extração quantitativa do Hg. O mercúrio foi extraído com solução de $5 \times 10^{-3}\text{M}$ de $\text{Bi}(\text{DDC})_3$ em clorofórmio por meio de agitação manual de 5 minutos. A separação das fases foi feita por decantação. A fase orgânica foi transferida a um frasco tipo penicilina para medida da atividade do ^{203}Hg .

O tempo necessário para proceder este procedimento experimental para análise de mercúrio e selênio é de cerca de 48 horas incluindo a etapa da dissolução da amostra e das contagens.

4.3.3. Preparação dos padrões para a análise de Hg e Se

Foram preparados padrões de cada um dos elementos a serem quantificados de duas formas: com processamento e sem processamento do padrão.

O padrão processado foi obtido aplicando o mesmo procedimento daquele empregado para a amostra. Para isso 50 μl da solução padrão de mercúrio (2,07 μg) e 50 μl da solução

padrão de selênio (7,78 μg), ambos previamente irradiados no reator juntamente com a amostra a ser analisada, foram pipetados no béquer de Teflon contendo cerca de 200 mg de material biológico não irradiado e o carregador de mercúrio e selênio e a partir deste ponto realizou-se a dissolução e aplicou-se o procedimento de separação descrito em 4.3.2. O processamento do padrão de Hg e Se foi para examinar eventual perda dos elementos durante o procedimento da separação.

O padrão não processado foi preparado pipetando as soluções padrões dos elementos diretamente nos respectivos frascos de contagem (2,07 μg no caso do mercúrio e 7,78 μg para o selênio) e depois diluindo-os com água destilada e algumas gotas de ácido nítrico concentrado, para se obter a mesma geometria para a contagem.

4.3.4. Contagens

Conforme mencionado no item 4.3.2 as contagens das amostras e padrões foram realizadas no detector de Ge hiperpuro. O selênio foi quantificado pela medida dos raios gama de energia de 264 keV do ^{76}Se e o mercúrio pela atividade do ^{203}Hg pelo fotopico de energia 279 keV. O tempo de contagem para a amostra variou de 40 000 a 90 000 segundos e para o padrão variou de 1 800 a 7 200 segundos.

Na Fig. 4.1 está o esquema da separação radioquímica de mercúrio e selênio.

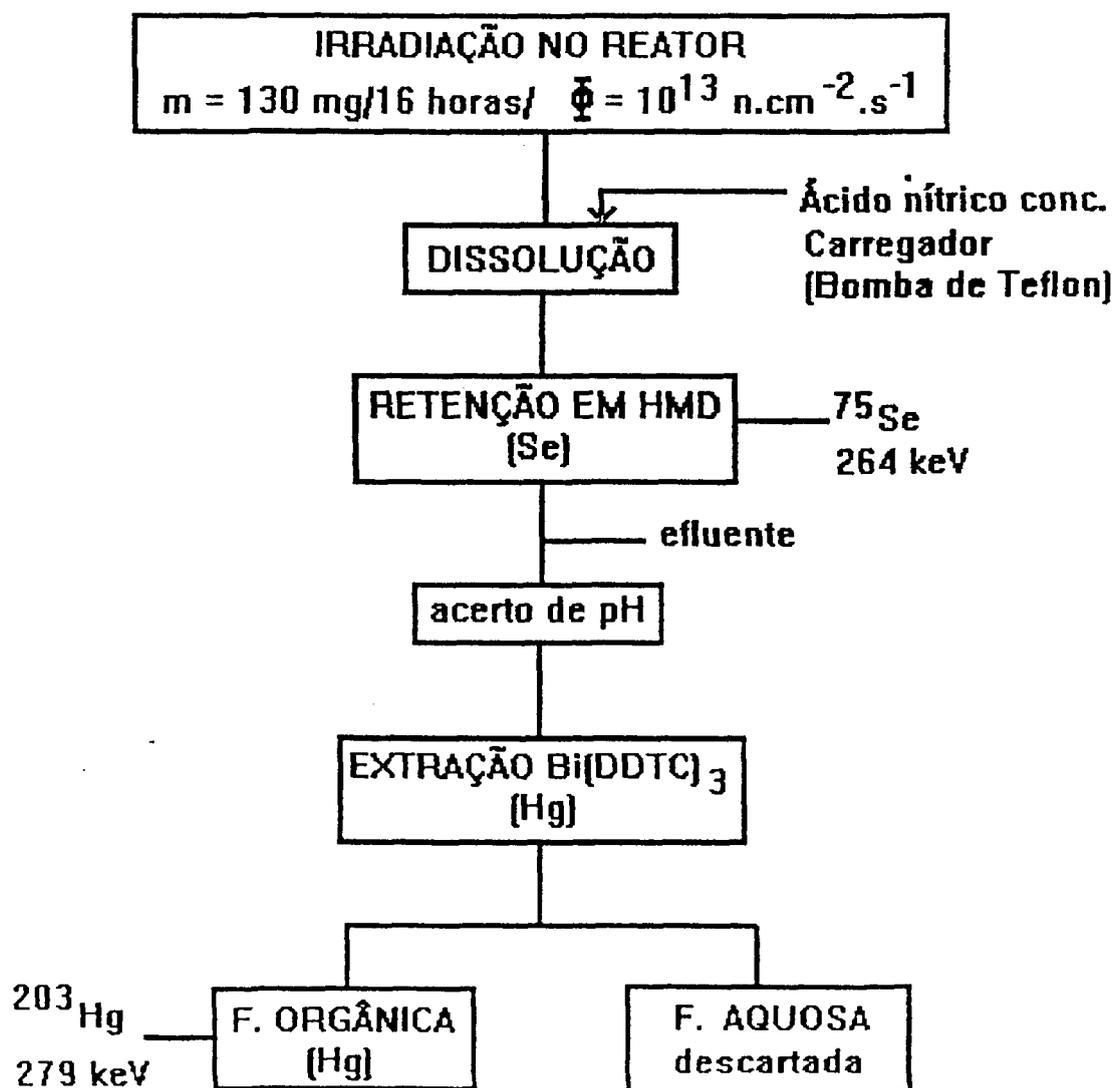


Fig. 4.1 - Esquema da separação radioquímica do Hg e Se.

4.3.5. Determinação do rendimento da separação

Cerca de 200 mg de material biológico não irradiado foram colocados juntamente com 50 μ l de solução de traçador de ^{75}Se , 50 μ l da solução de traçador de ^{203}Hg , 47,30 μ g de carregador de selênio e 20,73 μ g de carregador de mercúrio em um béquer de Teflon. Esta mistura foi dissolvida com cerca de 5 ml de solução de ácido nítrico 1M em sistema fechado (béquer de Teflon) numa estufa à 100°C por 7 horas. Após a dissolução foi feita a diluição usando solução de ácido nítrico 1M até completar o volume de 15 ml. O procedimento experimental adotado foi o descrito no item 4.3.2.

4.3.6. Análise dos materiais de referência

Foram analisados, para avaliação da exatidão do método, dois materiais de referência, a saber: Copepod IAEA-MA-1/TM e Fish Flesh IAEA-MA-2/TM ambos provenientes da Agência Internacional de Energia Atômica. O procedimento utilizado para análise destes materiais foi o mesmo utilizado para os extratos das plantas medicinais, já descrito no item 4.3.2. Para determinação dos teores de Hg e Se nos materiais de referência em relação ao peso seco foram utilizados os

seguintes valores de porcentagem de perda de peso: 5,67% para o Copepod e 4,96% para o Fish Flesh, previamente determinados segundo procedimento descrito nos seus certificados^(55,56).

4.3.7. Análise dos extratos das plantas medicinais

Foram analisados utilizando este método de análise por ativação com separação radioquímica os extratos das seguintes plantas medicinais: *Achyrocline satureoides* DC (macela), *Casearia sylvestris* (guaçatonga) seca e fresca, *Centella asiatica* (cairuçu), *Citrus aurantium* L. (laranja amarga) e *Solano lycocarpum* (fruto do lobo). Estes extratos foram escolhidos pela disponibilidade da amostra para a análise com separação radioquímica.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

São apresentados neste Capítulo os resultados individuais e os valores das médias das determinações de elementos nas amostras de extratos das plantas e em materiais biológicos de referência com seus respectivos desvios padrões individuais obtidos aplicando-se a relação:

$$s = \sqrt{\sum |x_i - x_m|^2 / n-1} \quad (5.1)$$

onde s é o desvio padrão individual;

n é o número de determinações;

x_i são os valores obtidos e

x_m é a média aritmética das determinações.

A homogeneidade da série de resultados individuais obtidos na análise instrumental foi verificada aplicando-se o teste de r_{\max} e r_{\min} (57). Este critério estatístico foi aplicado para examinar resultados afetados por erros acidentais que escaparam à observação do pesquisador. Para isso calcularam-se r_{\max} e r_{\min} usando-se as relações:

$$r_{\max} = |x_{\max} - x_m| / s \cdot [(n-1) / n]^{1/2} \quad (5.2)$$

$$r_{\min} = |x_{\min} - x_m| / s \cdot [(n-1) / n]^{1/2} \quad (5.3)$$

onde x_{\max} é o maior valor do conjunto de dados;
 x_{\min} é o menor valor do conjunto de dados;
 x_m é a média aritmética dos valores;
 s é o desvio padrão individual e
 n é o número de determinações.

Se os valores de r_{\max} e r_{\min} forem menores que os tabelados, para um nível de significância de 5% e $n-2$ graus de liberdade, o conjunto dos resultados foi aceito como sendo homogêneo. Ocorrendo o contrário ($r_{\text{calculado}} > r_{\text{tabelado}}$) o resultado correspondente foi desprezado e foram feitos os cálculos de x_m e s com o novo conjunto de resultados.

Este teste estatístico foi aplicado para os resultados obtidos nas análises de todos os extratos das plantas e nos materiais de referência Pepperbush no.1 do NIES e Citrus Leaves 1572 pelo método INAA para elementos com mais de duas determinações.

5.1. Análise por ativação com nêutrons instrumental

5.1.1 - Resultados da INAA dos materiais de referência Pepperbush e Citrus Leaves

Nas Tabelas 5.1 e 5.2 são apresentados os resultados das análises dos elementos nos materiais de referência Pepperbush no.1 do NIES e Citrus Leaves 1572 do NIST, respectivamente.

Verifica-se que os resultados apresentam uma boa precisão com desvios padrões relativos variando de 0,2 a 14%. Comparando-se os resultados obtidos com os valores da literatura^(52,53), verifica-se que há, em geral, uma boa concordância com percentagens de erros relativos inferiores a 12%, considerados satisfatórios na análise de quantidades traço de elementos.

No caso do elemento Co, no material de referência Citrus Leaves, foi obtido um desvio padrão relativo de 14%, que se deve principalmente à baixa concentração deste elemento na amostra e à interferência da radiação de fundo. Nas contagens da radiação de fundo, o espectro obtido apresentou os fotopicos dos radioisótopos naturais da série do urânio e tório e os fotopicos do ^{60}Co que emitem raios gama com as energias de 1173,24 keV e 1332,50 keV. Estes dois fotopicos

TABELA 5.1 - Análise do material de referência Pepperbush no. 1 do NIES pelo método instrumental de análise por ativação com nêutrons.

ELEMENTOS	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MÉDIA \pm s	REF. (52)	ERRO RELAT. (%)
Al ($\mu\text{g/g}$)	706,4; 627,6; 613,4; 579,8; 591,7	625 \pm 50 (8%)		
As ($\mu\text{g/g}$)	1,93; 1,98; 2,00; 1,95; 2,14	2,00 \pm 0,08 (4%)	2,3 \pm 0,3	15
Br ($\mu\text{g/g}$)	1,33; 1,66; 1,55; 1,49; 1,54; 1,64; 1,55	1,5 \pm 0,1 (7%)		
Ca (%)	1,37; 1,56; 1,45; 1,36; 1,41; 1,49; 1,36	1,43 \pm 0,08 (6%)	1,38 \pm 0,07	4
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	322,7; 279,4; 272,0; 284,9; 323,8	297 \pm 25 (8%)		
Cl ($\mu\text{g/g}$)	Não detectado			
Co ($\mu\text{g/kg}$)	20,83; 20,50; 19,87; 19,93; 19,45; 20,60	20,2 \pm 0,5 (2%)	23 \pm 3	14
Cr ($\mu\text{g/g}$)	1,03; 1,17; 1,19; 0,96; 1,24	1,1 \pm 0,1 (9%)	1,3*	
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	1181; 1176; 1127; 1290; 1176; 1309; 1157; 1170	1198 \pm 65 (5%)	1200*	
Fe ($\mu\text{g/g}$)	207,4; 209,6; 207,7; 208,3	208 \pm 1 (0,5%)	205 \pm 17	1
K (%)	1,50; 1,62; 1,39; 1,31; 1,51; 1,54; 1,58; 1,45; 1,54; 1,61	1,5 \pm 0,1 (7%)	1,51 \pm 0,06	0,7
La ($\mu\text{g/kg}$)	348,3; 301,0; 290,9; 342,9; 320,3; 298,6	317 \pm 24 (8%)		
Mg ($\mu\text{g/g}$)	4431; 4115; 4415	4320 \pm 178 (4%)	4080 \pm 200	6
Mn ($\mu\text{g/g}$)	1924; 1666; 1734; 1871; 1889	1817 \pm 111 (6%)	2030 \pm 170	12
Na ($\mu\text{g/g}$)	92,9; 98,3; 98,6; 102,9; 101,2; 110,7; 105,0; 102,6	102 \pm 5 (5%)	106 \pm 13	4
Rb ($\mu\text{g/g}$)	74,7; 74,1; 75,7; 73,4; 77,9	75 \pm 2 (3%)	75 \pm 4	0
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	169; 170; 153; 155; 152	160 \pm 9 (6%)		
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	54,1; 52,6; 53,3; 59,1; 49,6; 48,1; 55,7; 51,7	53 \pm 3 (6%)		
Se ($\mu\text{g/kg}$)	202,8; 198,2; 213,6; 171,5	197 \pm 18 (9%)		
Zn ($\mu\text{g/g}$)	336,6; 337,9; 338,0; 338,4; 336,9	337,6 \pm 0,8 (0,2%)	340 \pm 20	0,7

* - valores de referência

Os resultados são dados em relação à massa do material seco.

TABELA 5.2 - Análise do material de referência Citrus Leaves 1572 do NIST pelo método instrumental de análise por ativação com nêutrons.

ELEMENTOS	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MÉDIA \pm s	REF. (53)	ERRO RELAT. (%)
Al ($\mu\text{g/g}$)	115,9; 113,8; 111,2; 100,3	110 \pm 7 (6%)	92 \pm 15	20
As ($\mu\text{g/g}$)	2,91; 2,88; 2,83; 2,85; 3,14; 3,21	3,0 \pm 0,2 (7%)	3,1 \pm 0,3	3
Br ($\mu\text{g/g}$)	7,55; 7,59; 8,66; 8,08; 8,37; 8,11	8,1 \pm 0,4 (5%)	8,2*	
Ca (%)	3,26; 3,37; 3,26; 3,12; 3,13	3,2 \pm 0,1 (3%)	3,15 \pm 0,10	2
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	267; 295; 302; 279; 263	281 \pm 17 (6%)	280*	
Cl ($\mu\text{g/g}$)	395; 416; 414; 485; 460	434 \pm 37 (9%)	414*	
Co ($\mu\text{g/kg}$)	18,8; 24,4; 20,3	21 \pm 3 (14%)	20*	
Cr ($\mu\text{g/g}$)	0,70; 0,68; 0,69; 0,76; 0,83; 0,69; 0,86	0,74 \pm 0,07 (9%)	0,8 \pm 0,2	8
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	93,9; 94,7; 99,7; 99,6; 96,8	97 \pm 3 (3%)	98*	
Fe ($\mu\text{g/g}$)	82,3; 82,7; 81,0; 84,9; 87,2	84 \pm 2 (2%)	90 \pm 10	7
K (%)	1,76; 1,90; 1,68; 1,92; 1,85; 1,74; 1,77; 1,82	1,80 \pm 0,08 (4%)	1,82 \pm 0,06	1
La ($\mu\text{g/kg}$)	169; 175; 173; 173	172 \pm 3 (2%)	190*	
Mg ($\mu\text{g/g}$)	6412; 6161; 6373; 6216; 5972	6227 \pm 177 (3%)	5800 \pm 301	7
Mn ($\mu\text{g/g}$)	21,6; 21,3; 21,3; 21,9	21,5 \pm 0,3 (1%)	23 \pm 2	7
Na ($\mu\text{g/g}$)	147; 140; 165; 144; 143; 172; 162; 148	153 \pm 12 (8%)	160 \pm 20	5
Rb ($\mu\text{g/g}$)	4,9; 4,8; 5,1; 5,0; 4,8	4,9 \pm 0,1 (2%)	4,84 \pm 0,06	1
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	51,8; 49,6; 50,7; 47,7; 52,6	51 \pm 2 (4%)	40*	
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	13,1; 12,6; 12,7; 10,9; 11,0; 11,1	12 \pm 1 (8%)	10*	
Zn ($\mu\text{g/g}$)	28,6; 33,4; 29,9; 29,3; 29,0; 29,0	30 \pm 2 (7%)	29 \pm 2	3

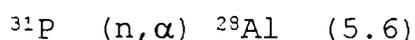
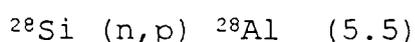
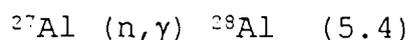
* - valores de referência

Os resultados são dados em relação à massa do material seco.

são os utilizados no cálculo da concentração do ^{60}Co nas amostras e por este motivo foi descontada no cálculo das concentrações dos elementos nas amostras a contribuição devido às taxas de contagens provenientes da radiação de fundo. A atividade do ^{60}Co no espectro da radiação de fundo, provavelmente, se origina do material de aço inoxidável utilizado na confecção da blindagem de chumbo.

Além disso, na medida da atividade do ^{60}Co de meia-vida de 5,24 anos pode ocorrer interferência dos fotopicos do ^{82}Br de 35,5 horas de meia-vida, quando as medidas das contagens não são feitas após adequados tempos de decaimento. Esta interferência ocorre em casos em que a amostra apresenta altos teores de Br conforme mostra o trabalho de Becker⁽⁵⁸⁾. O ^{60}Co é quantificado pela medida dos seus fotopicos de 1173,24 keV ou 1332,50 keV e o ^{82}Br emite raios gama de energias de 554,35, 619,11 e 776,52 keV. A soma dos picos 554,35 e 619,11 keV do ^{82}Br forma um pico de 1173,46 keV, que é indistingível do pico do ^{60}Co e a soma dos picos de 554,35 keV e 776,52 keV do ^{82}Br forma um pico soma de 1330,87 keV, que requer um detector de alta resolução para separá-lo do fotopico do ^{60}Co de 1332,50 keV. Com isto, algumas amostras tiveram que ser medidas após um tempo de decaimento de 20 dias para se obter os fotopicos do ^{60}Co livres da atividade do ^{82}Br . Segundo Becker em certos casos, se a contribuição da interferência é relativamente baixa (<5%), uma correlação pode ser determinada usando os outros picos do ^{82}Br para se obter a taxa de contagem devido somente ao ^{60}Co .

Na análise do Al no material de referência Citrus Leaves da Tabela 5.2 foi obtido um erro relativo de 20%. Esta discrepância se deve principalmente à interferência do P e Si presentes na amostra⁽⁵⁹⁾. O P e o Si formam na ativação com nêutrons o ^{29}Al , o mesmo radioisótopo utilizado na análise do Al. As reações nucleares que ocorrem são:



Para eliminar as interferências provenientes das reações 5.5 e 5.6 deve-se irradiar as amostras com fluxo de nêutrons termalizados ou estimar a contribuição das reações (n,p) e (n, α). Além disso, a ocorrência destas interferências depende das relações entre as concentrações de Si e Al e de P e Al presentes na matriz analisada. Uma vez verificada a interferência, as análises de Al podem ser corrigidas determinando os chamados "fatores de correção" e os teores de P e Si nas amostras em estudo.

Para verificar a interferência destas reações na determinação do Al em matrizes de vegetais, foram realizadas irradiações com e sem invólucro de cádmio do padrão sintético do alumínio, do silício e do fósforo nas mesmas condições adotadas para a análise.

Por exemplo, para o material biológico de referência Bowen's Kale que contém ao redor de 4500 $\mu\text{g/g}$ de fósforo, 249

$\mu\text{g/g}$ de silício e $70 \mu\text{g/g}$ de alumínio quando as irradiações deste material são executadas na Estação Pneumática no.4 do reator IEA-R1, onde o fluxo dos nêutrons térmicos é da ordem de $2,67 \times 10^{11} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e de $1,27 \times 10^{11} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para o fluxo de nêutrons epitérmicos, a interferência decorrente da presença do Si pode ser considerada desprezível e a interferência devido ao P é cerca de 10% neste tipo de amostra.

Conclui-se pelos resultados de exatidão e precisão obtidos nas Tabelas 5.1 e 5.2 que a análise por ativação com nêutrons instrumental é uma técnica bastante adequada para uma análise de grande número de elementos presentes nos materiais biológicos em baixas concentrações.

5.1.2 - Resultados da INAA dos extratos das plantas medicinais

São apresentados os resultados de Al, Br, Ca, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc e Zn obtidos nas análises dos extratos medicinais de *Achyrocline satureoides* DC e *Centella asiatica* (Tabela 5.3), *Casearia sylvestris* obtida de materiais secos e frescos (Tabela 5.4), *Citrus aurantium* e *Solidago microglossa* (Tabela 5.5), *Solanum lycocarpum* e *Stryphnondedron barbatiman* (Tabela 5.6) e *Singiber officinale* R. (Tabela 5.7).

TABELA 5.3 - Análises dos extratos de *Achyrocline satureoides* DC (macela) e *Centella asiatica* (cairuçu) pelo método instrumental de ativação com nêutrons.

ELEMENTOS	<i>Achyroclines satureoides</i> DC	(macela)	<i>Centella asiatica</i>	(cairuçu)
	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MÉDIA \pm s	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MÉDIA \pm s
Al ($\mu\text{g/g}$)	10,39; 10,81; 11,88; 11,42; 12,11	11,3 \pm 0,7 (6%)	1396; 1498; 1033	1309 \pm 244 (19%)
Br ($\mu\text{g/g}$)	2,94; 2,75; 2,68; 2,90; 2,85; 2,63	2,8 \pm 0,1 (4%)	22,0; 23,6; 24,7; 24,2; 22,5	23 \pm 1 (4%)
Ca (%)	0,168; 0,160; 0,111	0,15 \pm 0,03 (20%)	1,52; 1,63; 1,57; 1,53; 1,38; 1,80	1,6 \pm 0,1 (6%)
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	Não detectado		1563; 1501; 1553; 1559	1544 \pm 29 (2%)
Cl ($\mu\text{g/g}$)	0,406; 0,366; 0,402; 0,446	0,41 \pm 0,03 (7%)	3,76; 3,36; 3,04; 3,26	3,4 \pm 0,3 (9%)
Co ($\mu\text{g/kg}$)	18,0; 20,7; 22,0	20 \pm 2 (10%)	171; 217; 156	181 \pm 32 (18%)
Cr ($\mu\text{g/g}$)	4,10; 4,26; 4,18	4,18 \pm 0,08 (2%)	12,65; 11,53	12,1 \pm 0,8 (7%)
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	109,8; 120,6; 122,1; 119,5	118 \pm 6 (5%)	225; 235; 236; 220; 224	228 \pm 7 (3%)
Fe ($\mu\text{g/g}$)	461,2; 482,2; 465,4; 410,3; 523,2	468 \pm 41 (9%)	423; 437; 412; 453	431 \pm 18 (4%)
K (%)	0,87; 0,88; 0,77; 0,77; 0,86; 0,89; 0,86	0,84 \pm 0,05 (6%)	4,45; 4,56; 4,24; 4,40; 4,59; 4,34	4,4 \pm 0,1 (2%)
La ($\mu\text{g/kg}$)			735; 771; 753; 737	749 \pm 17 (2%)
Mg ($\mu\text{g/g}$)	996,9; 922,9; 1056; 940,4; 967,1; 1069; 977,0	990 \pm 55 (6%)	2187; 2498; 2377; 2318	2345 \pm 129 (6%)
Mn ($\mu\text{g/g}$)	0,94; 0,95; 0,96; 0,98	0,96 \pm 0,02 (2%)	195,0; 196,9; 193,1	195 \pm 2 (1%)
Na ($\mu\text{g/g}$)	81,0; 70,3; 78,2; 77,9; 68,6; 72,7	75 \pm 5 (7%)	1407; 1392; 1394; 1424; 1403	1404 \pm 13 (1%)
Rb ($\mu\text{g/g}$)	531; 557; 554; 551	548 \pm 12 (2%)	132,9; 135,9; 132,3; 133,9	134 \pm 2 (1%)
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	49,6; 42,7; 46,7; 41,7	45 \pm 4 (9%)	127,7; 122,5; 127,7; 124,0	125 \pm 3 (2%)
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	0,84; 0,95; 0,76	0,9 \pm 0,1 (11%)	121,9; 117,8; 125,6; 134,9	125 \pm 7 (6%)
Zn ($\mu\text{g/g}$)	134,4; 128,2; 124,9; 130,9; 127,3; 147,8; 135,1	133 \pm 8 (6%)	524; 605; 568; 614; 574	577 \pm 36 (6%)

Os números entre parênteses indicam desvios padrões relativos e os espaços em branco indicam que não foram realizadas as determinações do elemento.

TABELA 5.4 - Análises dos extratos de *Casearia sylvestris* (guaçatonga) seca e fresca pelo método instrumental de ativação com nêutrons.

ELEMENTOS	<i>Casearia sylvestris</i>	extrato do material fresco.	<i>Casearia sylvestris</i>	extrato do material seco
	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MEDIA \pm s	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MEDIA \pm s
Al ($\mu\text{g/g}$)	193,0; 177,5; 170,8; 180,1; 174,5	179 \pm 8 (4%)		
Br ($\mu\text{g/g}$)	891,7; 935,8; 880,2; 847,3	889 \pm 37 (4%)	121,9; 120,9; 123,6; 130,9	124 \pm 5 (4%)
Ca (%)	0,204; 0,208; 0,194; 0,201	0,202 \pm 0,006 (3%)	Não detectado	
Ce ($\mu\text{g/kg}$)				
Cl ($\mu\text{g/g}$)	2,14; 2,24; 2,09; 2,45; 2,17	2,2 \pm 0,1 (5%)	3,57; 3,30; 2,81; 3,08; 3,08; 2,83	3,1 \pm 0,3 (10%)
Co ($\mu\text{g/kg}$)	401,0; 538,2; 479,4	473 \pm 69 (15%)	1158; 830	994 \pm 232 (23%)
Cr ($\mu\text{g/g}$)				
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	323,2; 313,1; 315,5; 306,3; 305,7	313 \pm 7 (2%)	410,9; 401,0; 413,8; 426,4	413 \pm 10 (2%)
Fe ($\mu\text{g/g}$)	93,5; 91,9; 86,2; 93,9; 89,3; 92,6	91 \pm 3 (3%)	1816; 1668	1742 \pm 105 (6%)
K (%)	4,34; 5,04; 4,48; 4,58; 4,84; 4,92; 4,62; 4,87	4,7 \pm 0,2 (4%)	8,64; 8,77; 7,22; 8,28; 7,27; 8,90	8,2 \pm 0,8 (10%)
La ($\mu\text{g/kg}$)	119,8; 110,6; 106,3	112 \pm 7 (6%)		
Mg ($\mu\text{g/g}$)	2782; 2147; 2635; 2162	2432 \pm 325 (13%)	4519; 3836; 4687; 4535	4394 \pm 380 (9%)
Mn ($\mu\text{g/g}$)	192,7; 187,7; 201,9; 241,3	206 \pm 24 (12%)	132,2; 135,9; 135,7; 129,3	133 \pm 3 (2%)
Na ($\mu\text{g/g}$)	2077; 2244; 1907; 2089; 2126; 1969; 2086	2071 \pm 109 (5%)	3708; 3444; 3764; 3387; 3711	3603 \pm 174 (5%)
Rb ($\mu\text{g/g}$)	115,7; 115,3; 102,1; 103,2; 110,3; 102,2	108 \pm 6 (6%)	123,3; 136,4; 130,2; 137,3	132 \pm 6 (5%)
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	67,9; 70,3; 64,4; 64,1	67 \pm 3 (4%)	44,3; 48,3; 42,0; 43,5	45 \pm 3 (7%)
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	21,2; 20,2; 19,4; 22,6	21 \pm 1 (5%)	Não detectado	
Zn ($\mu\text{g/g}$)	88,7; 86,7; 83,1; 83,2; 83,0	85 \pm 3 (4%)	110,9; 111,3; 114,7; 115,1; 111,1	113 \pm 2 (2%)

TABELA 5.5 - Análises dos extratos de *Citrus aurantium L.* (laranja amarga) e *Solidago microglossa* (arnica) pelo método instrumental de ativação com nêutrons.

ELEMENTOS	<i>Citrus aurantium L.</i> (laranja amarga)		<i>Solidago microglossa</i> (arnica)	
	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MEDIA \pm s	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MEDIA \pm s
Al ($\mu\text{g/g}$)			136,1; 134,4; 135,6; 140,1; 146,6	139 \pm 5 (4%)
Br ($\mu\text{g/g}$)	533,3; 551,1; 557,4; 586,3; 604,3; 629,8	577 \pm 36 (6%)	41,1; 37,8; 37,8; 40,2; 36,2; 37,8	38 \pm 2 (5%)
Ca (%)	0,318; 0,286; 0,316; 0,275; 0,268; 0,321	0,30 \pm 0,02 (7%)	0,381; 0,368; 0,365; 0,353; 0,347	0,36 \pm 0,01 (3%)
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	426,3; 311,7; 384,3	374 \pm 58 (16%)	534; 531; 479; 483	507 \pm 30 (6%)
Cl ($\mu\text{g/g}$)	7,9; 7,3; 5,2	7 \pm 1 (14%)	8,90; 9,34; 8,54; 8,74; 8,44	8,8 \pm 0,4 (5%)
Co ($\mu\text{g/kg}$)	599,2; 717,6	658 \pm 84 (13%)	426,6 ;421,9; 487,9; 375,9	428 \pm 46 (11%)
Cr ($\mu\text{g/g}$)	2,29; 1,28; 1,24	1,6 \pm 0,6 (38%)	1,09; 1,00; 0,99; 1,23	1,1 \pm 0,1 (9%)
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	1862; 1963; 2002; 1936; 1870	1927 \pm 60 (3%)	1151; 1147; 1126; 1108; 1120; 1111	1127 \pm 18 (2%)
Fe ($\mu\text{g/g}$)	6,93; 7,41; 7,24; 7,80	7,3 \pm 0,4 (5%)	145,4; 179,0; 166,7	164 \pm 17 (10%)
K (%)	10,63; 9,42; 9,35; 8,68; 8,79; 10,12; 8,71	9,4 \pm 0,8 (9%)	3,06; 3,18; 3,35; 2,90; 3,22	3,1 \pm 0,2 (6%)
La ($\mu\text{g/kg}$)	Não detectado		153,8; 174,5; 192,2	174 \pm 19 (11%)
Mg ($\mu\text{g/g}$)	4754; 5210; 4143; 3521	4407 \pm 735 (17%)	4012; 4338; 4405; 4558	4328 \pm 230 (5%)
Mn ($\mu\text{g/g}$)	287,0; 309,4; 333,7; 278,3; 278,1	297 \pm 24 (8%)	57,5; 55,4; 56,3; 58,9; 54,8	57 \pm 2 (3%)
Na ($\mu\text{g/g}$)	1056; 1009; 1094; 1000; 1071; 1002	1039 \pm 40 (4%)	176,9; 175,5; 164,0; 166,6; 161,3	169 \pm 7 (4%)
Rb ($\mu\text{g/g}$)	511; 523; 535; 550; 546; 523	531 \pm 15 (3%)	137,2; 138,9; 138,9; 135,2	138 \pm 2 (1%)
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	Não detectado		130,7; 131,1; 130,4; 140,6	133 \pm 5 (4%)
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	Não detectado		32,7; 32,1; 30,8	32 \pm 1 (3%)
Zn ($\mu\text{g/g}$)	123,9; 129,0; 129,1; 144,3; 130,5	131 \pm 8 (6%)	119,2; 109,3; 126,1; 117,1	118 \pm 7 (6%)

TABELA 5.6 - Análises dos extratos de *Solano lycocarpum* (fruto do lobo) e *Stryphnondedron barbatiman* (barbatimão) pelo método instrumental de ativação com nêutrons.

ELEMENTOS	<i>Solano lycocarpum</i>	(fruto do lobo)	<i>Stryphnondedron barbatiman</i>	(barbatimão)
	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MÉDIA \pm s	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MÉDIA \pm s
Al ($\mu\text{g/g}$)	16,0; 15,6; 16,2; 13,9	15 ± 1 (7%)	53,5; 49,5; 48,1; 51,7; 55,2	52 ± 3 (6%)
Br ($\mu\text{g/g}$)	21,4; 21,6; 20,9; 19,8; 22,8	21 ± 1 (5%)	7,34; 7,25; 7,54; 7,59; 7,87	$7,5 \pm 0,2$ (3%)
Ca ($\mu\text{g/g}$)	613; 649; 517	593 ± 68 (11%)	795; 802; 885; 815; 880	835 ± 44 (5%)
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	291; 329; 301	307 ± 20 (7%)	187; 160; 223; 193	191 ± 26 (14%)
Cl ($\mu\text{g/g}$)	6,8; 6,8; 5,1 5,2	$6,0 \pm 0,9$ (15%)	5,1; 4,2; 4,4; 4,1; 5,1	$4,6 \pm 0,5$ (11%)
Co ($\mu\text{g/kg}$)	943; 1212; 1817	1324 ± 448 (34%)	58,34; 51,33	55 ± 5 (9%)
Cr ($\mu\text{g/g}$)	3,73; 3,52; 3,31; 2,86	$3,4 \pm 0,4$ (12%)	0,23; 0,23; 0,29	$0,25 \pm 0,03$ (12%)
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	246; 269; 263; 277; 271	265 ± 12 (4%)	417; 420; 427; 416; 419	420 ± 4 (1%)
Fe ($\mu\text{g/g}$)			28,0; 27,1; 31,7; 29,0; 30,4; 31,1	30 ± 2 (7%)
K (%)	2,36; 2,41; 2,43; 2,26; 2,29; 2,36; 2,44; 2,21	$2,35 \pm 0,08$ (3%)	0,681; 0,687; 0,676; 0,667; 0,646; 0,688	$0,67 \pm 0,02$ (3%)
La ($\mu\text{g/kg}$)	214; 189; 254; 222	220 ± 27 (12%)		
Mg ($\mu\text{g/g}$)	1309; 1031; 1108; 1247	1174 ± 127 (11%)	957; 909; 1185; 1159	1053 ± 140 (13%)
Mn ($\mu\text{g/g}$)	8,31; 9,75; 7,84; 8,68	$8,6 \pm 0,8$ (9%)	11,7; 11,9; 10,9; 10,5; 10,8; 10,1	$11,0 \pm 0,7$ (6%)
Na ($\mu\text{g/g}$)	223; 228; 191; 204; 209	211 ± 15 (7%)	150,4; 151,1; 162,1; 150,4; 164,6; 163,9	157 ± 7 (4%)
Rb ($\mu\text{g/g}$)	60,0; 57,1; 63,5; 58,5; 58,7	60 ± 2 (3%)	22,1; 25,8; 23,8; 24,0; 24,3	24 ± 1 (4%)
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	19,0; 17,8; 16,5	18 ± 1 (6%)	33,68; 25,46; 24,98	28 ± 5 (18%)
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	35,5; 47,8; 36,8	40 ± 7 (17%)	6,50; 6,54; 7,15; 6,14; 6,42	$6,6 \pm 0,4$ (6%)
Zn ($\mu\text{g/g}$)	62,5; 61,8; 56,4; 58,1; 57,6	59 ± 3 (5%)	17,0; 17,4; 16,8; 16,3	$16,9 \pm 0,5$ (3%)

TABELA 5.7 - Análise dos extratos de *Zingiber officinale Roscoe* (gingibre) pelo método instrumental de ativação com nêutrons.

ELEMENTOS	<i>Zingiber officinale R.</i> (gingibre)	
	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MEDIA \pm s
Al ($\mu\text{g/g}$)	185,2; 200,9; 205,0; 172,1	191 \pm 15 (8%)
Br ($\mu\text{g/g}$)	19,2; 17,2; 18,3; 17,5; 16,9	17,8 \pm 0,9 (5%)
Ca ($\mu\text{g/g}$)	200; 174	187 \pm 18 (10%)
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	709; 703; 634; 722; 796	713 \pm 58 (8%)
Cl ($\mu\text{g/g}$)	1,13; 1,19; 0,99; 1,02	1,08 \pm 0,09 (8%)
Co ($\mu\text{g/kg}$)	267; 243; 276; 239	256 \pm 18 (7%)
Cr ($\mu\text{g/g}$)	3,2; 3,1; 3,1; 2,4	2,9 \pm 0,4 (14%)
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	27,6; 29,6; 30,0; 35,4; 30,6	31 \pm 3 (10%)
Fe ($\mu\text{g/g}$)	119; 126; 116; 97	114 \pm 12 (10%)
K (%)	4,91; 4,40; 5,06; 5,12; 4,26; 4,42; 4,15	4,6 \pm 0,4 (9%)
La ($\mu\text{g/kg}$)	360; 368; 310; 305; 330	335 \pm 29 (9%)
Mg ($\mu\text{g/g}$)	2037; 2046; 2159; 2086	2082 \pm 56 (3%)
Mn ($\mu\text{g/g}$)	263; 260; 258; 249; 265	259 \pm 6 (2%)
Na ($\mu\text{g/g}$)	449; 451; 458; 496; 458; 481	465 \pm 19 (4%)
Rb ($\mu\text{g/g}$)	27,2; 28,2; 27,9; 31,7; 26,2; 29,6; 27,5; 29,6	28 \pm 2 (7%)
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	19,0; 20,1; 19,9	19,7 \pm 0,6 (3%)
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	17,9; 21,7; 19,2; 19,3	20 \pm 2 (10%)
Zn ($\mu\text{g/g}$)	78,1; 78,7; 74,9; 77,9; 70,8; 72,2; 75,3	75 \pm 3 (4%)

Verifica-se que os resultados obtidos (Tabelas 5.3 a 5.7) apresentam, em geral, uma boa precisão com desvios padrões relativos variando de 1 a 11% para a maioria dos elementos analisados.

Os desvios padrões relativos obtidos na análise do Ce nos extratos variaram entre 2 e 16%. Este valor relativamente elevado para o desvio padrão resulta, provavelmente, da baixa concentração deste elemento nas amostras, que foi da ordem de $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Os desvios padrões relativos dos resultados de Co variaram de 7 a 34%. A falta de precisão obtida em algumas amostras se deve à baixa concentração deste elemento nas amostras e também, devido aos problemas de interferência discutidos no item anterior para os resultados para os materiais biológicos de referência.

Sobre os desvios padrões relativos obtidos na análise do Cr, estes variaram de 2 a 38%. O Cr é um elemento difícil de ser quantificado em materiais biológicos como mostra o trabalho de Greenberg e Zeisler⁽⁵⁰⁾. A determinação do Cr pode sofrer a interferência do Fe devido à sua reação nuclear:



Isto é, o Fe forma o mesmo radioisótopo utilizado na determinação do Cr e, esta interferência é mais pronunciada quando a irradiação é realizada numa posição do reator onde o

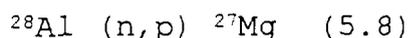
fluxo de nêutrons rápidos e epitérmicos é alto, e quando a relação entre as quantidades de Fe e Cr na amostra é alta.

Esta interferência pode ser reduzida por meio da irradiação das amostras numa posição do reator onde os nêutrons são termalizados. Além disso, a análise do Cr é suscetível à interferência das radiações de freamento (efeito "Bremsstrahlung"), devido à baixa energia dos raios gama emitidos pelo ^{51}Cr de 320 keV.

Este efeito "Bremsstrahlung" é produzido pelos processos de desaceleração das radiações, principalmente provindos dos radioisótopos ^{32}P e ^{42}K e é mais intenso com radiações β de alta energia em materiais com alto número atômico. Isto acarreta a obtenção de um espectro contínuo para regiões de energias baixas (<500 keV) interferindo na determinação de vários elementos, cujos radioisótopos emitem raios gama de baixas energias e baixa atividade. Este tipo de interferência é diminuída muitas vezes utilizando-se procedimentos de separação radioquímica.

Um outro fator que ocorre na obtenção de resultados menos precisos na análise do Cr é a sua facilidade em se volatilizar, pois dependendo da forma em que se encontra este elemento (cloreto de cromila) pode resultar em perda durante a irradiação no reator, onde a temperatura é da ordem de 80°C ou ao se lacrar o recipiente de alumínio utilizado para a irradiação ("coelho").

Os resultados obtidos para o Mg apresentam desvios padrões relativos variando de 3 a 17%. Os altos desvios são devidos a dois tipos de interferências. Segundo Lavi e colaboradores⁽⁶¹⁾, o Mg é determinado por meio do radionuclídeo de meia-vida 9,46 minutos pela medida de seu fotopico de 843,76 ou de 1014,43 keV. A intensidade do pico de 843,76 keV do ^{27}Mg é cerca de três vezes maior que o de 1014,43 keV, e o pico de 843,76 keV, dependendo do teor de ^{56}Mn da amostra, sofre a interferência do pico de 846,76 keV do ^{56}Mn com meia-vida de 2,58 horas. Conseqüentemente, é muito importante examinar se há interferência do ^{56}Mn , determinando a meia-vida do ^{27}Mg da amostra quando se utiliza o pico de 843,76 keV ou ainda utilizar o pico de 1014,43 keV apesar deste pico apresentar baixa taxa de contagens. Um outro tipo de interferência seria a do ^{28}Al que forma o ^{27}Mg por meio da reação:



Sobre os resultados de La, Sb e Sc convém salientar que estes elementos, quando presentes em materiais biológicos, são muitas vezes difíceis de serem quantificados pelo método instrumental com a devida precisão devido às baixas concentrações ou ainda pela não homogeneidade destes elementos na amostra.

Na análise do extrato da *Citrus aurantium L.* as condições experimentais de análise foram modificadas devido à grande quantidade de sacarose contida nesta amostra. Foi

necessária a redução do tempo de irradiação para 8 horas e do fluxo de nêutrons de 10^{13} n.cm⁻².s⁻¹ para 10^{12} n.cm⁻².s⁻¹ e isto acarretou a análise de um menor número de elementos na amostra. As irradiações longas sob fluxo de nêutrons mais intensos provocaram a fusão do extrato, ocasionando vazamento através do invólucro de plástico.

5.2 - Determinação de mercúrio e selênio pelo método de separação radioquímica

5.2.1 - Resultados da determinação do rendimento da separação radioquímica

Inicialmente, foi determinado o rendimento da análise com separação radioquímica para mercúrio e selênio cujos resultados são apresentados na Tabela 5.8. Os dados desta Tabela foram obtidos utilizando como matriz os extratos de plantas medicinais e mostram uma boa precisão dos resultados. O valor médio do rendimento obtido em sete determinações de cada um dos elementos foi de $(98,3 \pm 4,0)\%$ para o selênio e de $(99,8 \pm 4,7)\%$ para o mercúrio. Os altos valores do rendimento da separação radioquímica e a sua precisão indicam a viabilidade da utilização do procedimento proposto para a análise do selênio e mercúrio nas plantas medicinais.

5.2.2 - Resultados da determinação de mercúrio e selênio em materiais de referência por RNAA

Os resultados das análises de mercúrio e selênio nos materiais de referência Copepod IAEA-MA-1/TM e Fish Flesh Homogenate IAEA-MA-2/TM obtidos por meio das separações radioquímicas estão na Tabela 5.9, juntamente com os valores da literatura⁽⁶²⁾ para comparação. Foram realizadas pelo menos cinco determinações de cada material. Os resultados obtidos apresentaram desvios padrões relativos menores que 11% e erros relativos variando de 1 a 15%. Estes resultados indicam uma boa precisão e exatidão do método adotado, mostrando que o procedimento proposto é adequado para análise de Hg e Se nos materiais biológicos.

Tabela 5.8 - Rendimento da separação radioquímica.

Elemento	Resultados Individuais (%)	Média \pm s (%)
Se	98,6; 102,0; 100,0; 101,0; 91,4; 101,0; 94,1	98,3 \pm 4,0
Hg	96,0; 96,0; 108,0; 103,4; 100,2; 95,0; 99,9	99,8 \pm 4,7

TABELA 5.9 - Análises de Hg e Se nos materiais de referência Copepod e Fish Flesh, Homogenate pelo método de análise por ativação com separação radioquímica.

MATERIAL	ELEMENTO	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MÉDIA \pm s	REF.(62)	ERRO RELAT. (%)
Copepod	Hg ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	279; 277; 249; 246; 284	267 ± 18 (7%)	280 ± 10	5
	Se ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2740; 3080; 2950; 2690; 2630; 2560; 2570; 2530; 2590	2704 ± 191 (7%)	3000 ± 201	11
Fish Flesh	Hg ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	470; 470; 520; 410; 460	466 ± 39 (8%)	470 ± 20	1
	Se ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	1600; 1350; 1700; 1420; 1340	1482 ± 160 (11%)	1700 ± 300	15

Os números entre parênteses indicam os desvios padrões relativos. Resultados em relação à massa do material de referência seco.

Como foi abordado nos Capítulos anteriores o Hg, pela medida do ^{203}Hg , pôde ser determinado lançando mão de uma separação radioquímica, visto que o pico de 279 keV deste radioisótopo utilizado na análise deste elemento, também é pico do ^{75}Se , causando assim, interferência pela superposição de picos. Convém lembrar que na irradiação do Hg com nêutrons há a formação também do radioisótopo ^{197}Hg com meia-vida de 65 horas. Entretanto, a análise pela medida do ^{197}Hg é dificultada pela alta atividade do ^{24}Na que impede o manuseio da amostra logo após a irradiação. Os resultados indicam que a irradiação da amostra no reator em ampola de quartzo evita o problema de perda de Hg, que é um elemento volátil a aproximadamente 60°C dependendo da forma em que se encontra.

Um outro fator que se deve considerar na determinação do Hg presente em baixas concentrações nos materiais biológicos é a contaminação da amostra pela adsorção do Hg do ambiente de laboratório a qual deve ser evitada mantendo o frasco fechado, assim como, fechando a ampola logo após a pesagem do material.

Com relação à recuperação do Hg durante a dissolução do material na bomba de Teflon, foi estimado por Zhuang e colaboradores⁽⁶³⁾ que mais de 99% de Hg permanecem na solução do recipiente da bomba e que deste modo não há perda de Hg na dissolução.

Pelos resultados apresentados pode-se concluir que a técnica de separação química proposta neste trabalho é

perfeitamente adequada para análise de materiais biológicos e a série de cuidados necessários na análise são inerentes a uma técnica analítica para determinação de baixas concentrações de elementos.

5.2.3 - Resultados da determinação de mercúrio e selênio em extratos medicinais por RNAA

Foram analisados os seguintes extratos das plantas medicinais: *Achyrocline satureoides* DC (macela), *Casearia sylvestris* (guaçatonga) seca e fresca, *Centella asiatica* (cairuçu), *Citrus aurantium* L. (laranja amarga) e *Solanum lycocarpum* (fruto do lobo) cujos resultados são apresentados na Tabela 5.10.

Os resultados da análise de Se e Hg da Tabela 5.10 apresentam desvios padrões relativos inferiores a 21% para a maioria das amostras analisadas, os quais podem ser considerados satisfatórios por se tratar de análises de concentrações muito baixas de elementos, da ordem de $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Para resultados de Hg no extrato de *Achyrocline satureoides* e de Se no *Citrus aurantium* L. são apresentados na Tabela 5.10 os intervalos das concentrações uma vez que estes resultados não foram reprodutíveis.

TABELA 5.10 - Análise do Se e Hg nos extratos das plantas *Achyrocline satureoides* DC (macela), *Casearia sylvestris* (guaçatonga) seca e fresca, *Centella asiatica* (cairuçu), *Citrus aurantium* L. (laranja amarga) e *Solano lycocarpum* (fruto do lobo), por análise por ativação com separação radioquímica.

ELEMENTO	PLANTAS	RESULTADOS INDIVIDUAIS	MÉDIA \pm s (desvio padrão relativo, %)
Se ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	<i>Achyrocline satureoides</i> DC	29,8; 35,0	32 ± 4 (13)
	<i>Casearia sylvestris</i> (seca)	21,3; 26,0	24 ± 3 (13)
	<i>Casearia sylvestris</i> (fresca)	27,2; 37,4; 31,4	32 ± 5 (16)
	<i>Centella asiatica</i>	109,1; 127,2; 132,1	123 ± 12 (10)
	<i>Citrus aurantium</i> L.	22; 151	22 - 151
	<i>Solano lycocarpum</i>	14,11; 12,54; 11,31	13 ± 1 (8)
Hg ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	<i>Achyrocline satureoides</i> DC	509; 1020	509 - 1020
	<i>Casearia sylvestris</i> (seca)	18,3; 22,3; 16,5	19 ± 3 (16)
	<i>Casearia sylvestris</i> (fresca)	285,6; 277,2; 190,9	251 ± 52 (21)
	<i>Centella asiatica</i>	107,3; 102,9; 114,9	108 ± 6 (6)
	<i>Citrus aurantium</i> L.	570; 403; 436	470 ± 88 (19)
	<i>Solano lycocarpum</i>	7,30; 5,37; 6,09	6 ± 1 (17)

Com relação aos elementos encontrados na coluna do trocador inorgânico, convém mencionar que foram detectados os radioisótopos de ^{82}Br , ^{51}Cr , ^{60}Co , ^{134}Cs , ^{59}Fe , ^{86}Rb , ^{122}Sb , ^{46}Sc e ^{65}Zn juntamente com o ^{75}Se (elemento de interesse). A retenção destes elementos em meio nítrico 1M já era esperada, baseando-se nos estudos realizados⁽⁴⁶⁾, isto é, os elementos Cr e Sb podem ser retidos quantitativamente no trocador enquanto que os elementos Cs e Rb não apresentam um comportamento reprodutível com relação à retenção. Os elementos Br, Co, Fe, Sc e Zn foram identificados no trocador em quantidades muito pequenas em relação à quantidade existente no material. Foi verificado que cerca de 97% da quantidade presente de cada elemento são eluídos da coluna.

Os espectros de raios gama obtidos para as amostras após a separação radioquímica apresentaram os picos de ^{75}Se e ^{203}Hg bem definidos conforme ilustra a Fig 5.1.

Sobre a RNAA do Se, Greenberg e colaboradores⁽³²⁾ afirmam que a dificuldade em obter resultados precisos deste elemento se deve a certos compostos orgânicos do Se, cujas ligações são difíceis de se romperem por via ácida e estes podem acompanhar o Hg no procedimento de separação.

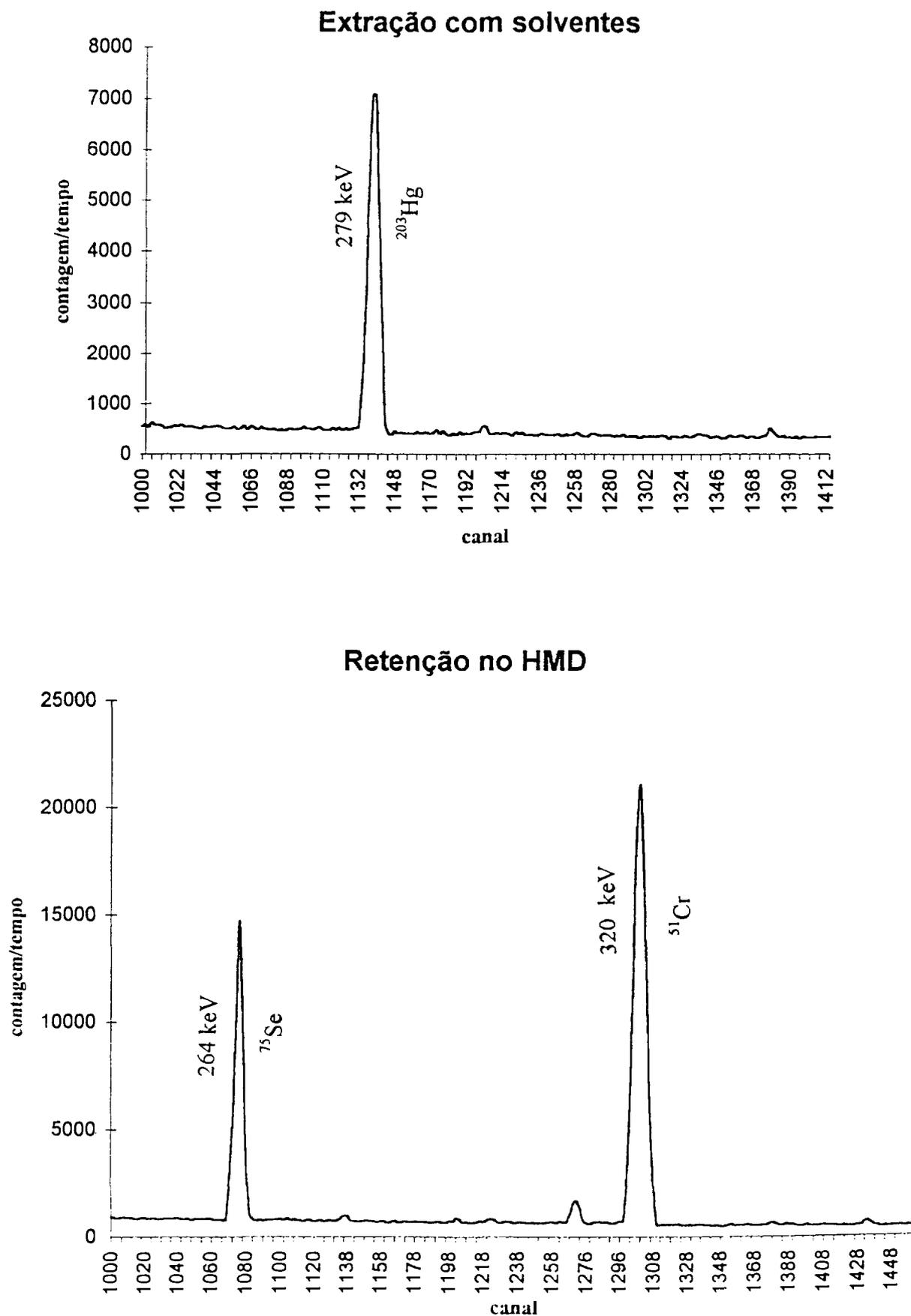


Fig. 5.1 - Espectros de raios gama obtidos na amostra após a separação radioquímica.

5.3 - Análise dos resultados obtidos nos extratos das plantas medicinais

Para efetuar uma análise dos teores dos elementos encontrados nos extratos das plantas medicinais foram elaboradas as Tabelas 5.11 e 5.12 contendo as médias dos resultados obtidos para cada amostra analisada pelos métodos de análise por ativação instrumental e com separação radioquímica. Com relação aos teores dos elementos encontrados nos extratos medicinais conforme mostram as Tabelas 5.11 e 5.12, exceptuando-se para o caso da *Achyrocline satureoides* DC (macela) e *Stryphnondedron barbatiman* (barbatimão), verifica-se que o elemento K se encontra em teores mais elevados, da ordem de percentagens, os elementos Al, Br, Ca, Cl, Cr, Fe, Mg, Mn, Na, Rb e Zn ao nível de $\mu\text{g/g}$ e os elementos Ce, Co, Cs, Hg, La, Sb, Sc e Se ao nível de $\mu\text{g/kg}$.

A maioria dos elementos encontrados nos extratos têm sido detectados nas plantas. Em geral, os elementos K, Ca e Mg se encontram nas plantas em teores superiores a 0,1% e conseqüentemente, os extratos analisados apresentam teores mais altos destes elementos. Já os elementos Cl, Fe, Mn e Zn são encontrados nas plantas em teores que variam de $\mu\text{g/kg}$ até $\mu\text{g/g}$, dependendo da espécie da planta.

Vários fatores podem influenciar nos teores dos elementos presentes em uma planta. Segundo o trabalho de Tran Van e colaboradores⁽¹⁰⁾ uma determinada planta pode agir como

Tabela 5.11 - Resultados para os extratos das plantas *Achyrocline saturoides* DC, *Casearia sylvestris* fresca, *Casearia sylvestris* seca, *Centella asiatica* e *Citrus aurantium* L.

Elementos	<i>Achyrocline saturoides</i> DC	<i>Casearia sylvestris</i> fresca	<i>Casearia sylvestris</i> seca	<i>Centella asiatica</i>	<i>Citrus aurantium</i> L.
Al ($\mu\text{g/g}$)	11.3 ± 0.7 (a)	179 ± 9	(c)	1309 ± 244	(c)
Br ($\mu\text{g/g}$)	$2.8 \pm 0,1$	889 ± 37	124 ± 5	23 ± 1	577 ± 36
Ca (%)	$0,15 \pm 0,03$	$0,202 \pm 0,006$	(b)	$1,6 \pm 0,1$	$0,30 \pm 0,02$
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	(b)	(c)	(c)	1544 ± 29	374 ± 58
Cl ($\mu\text{g/g}$)	$0,41 \pm 0,03$	$2,2 \pm 0,1$	$3,12 \pm 0,3$	$3,4 \pm 0,3$	7 ± 1
Co ($\mu\text{g/kg}$)	20 ± 2	473 ± 69	994 ± 232	181 ± 32	658 ± 84
Cr ($\mu\text{g/g}$)	$4,18 \pm 0,08$	(c)	(c)	$12,1 \pm 0,8$	$1,6 \pm 0,6$
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	118 ± 6	313 ± 7	413 ± 10	228 ± 7	1927 ± 60
Fe ($\mu\text{g/g}$)	468 ± 41	91 ± 3	1742 ± 105	431 ± 18	$7,3 \pm 0,4$
Hg ($\mu\text{g/kg}$)	509 - 1020(d)	251 ± 52	19 ± 3	108 ± 6	469 ± 88
K (%)	$0,84 \pm 0,05$	$4,7 \pm 0,2$	$8,2 \pm 0,8$	$4,4 \pm 0,1$	$9,4 \pm 0,8$
La ($\mu\text{g/kg}$)	(c)	112 ± 7	(c)	749 ± 17	(b)
Mg ($\mu\text{g/g}$)	990 ± 55	2432 ± 325	4394 ± 380	2345 ± 129	4407 ± 735
Mn ($\mu\text{g/g}$)	$0,96 \pm 0,02$	206 ± 24	133 ± 3	195 ± 2	297 ± 24
Na ($\mu\text{g/g}$)	75 ± 5	2071 ± 109	3603 ± 174	1404 ± 13	1039 ± 40
Rb ($\mu\text{g/g}$)	548 ± 12	108 ± 7	132 ± 7	134 ± 2	533 ± 15
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	45 ± 4	67 ± 3	45 ± 3	126 ± 3	(b)
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	$0,9 \pm 0,1$	21 ± 1	(b)	125 ± 7	(b)
Se ($\mu\text{g/kg}$)	29,8 - 35,0(d)	32 ± 5	24 ± 3	122 ± 12	22 - 151(d)
Zn ($\mu\text{g/g}$)	133 ± 8	85 ± 3	113 ± 2	577 ± 36	131 ± 86

(a) média e desvio padrão

(b) indica que o elemento não foi detectado

(c) indica que o elemento foi detectado, mas não quantificado

(d) intervalo de concentração

Tabela 5.12 - Resultados para os extratos das plantas *Solano lycocarpum*, *Solidago microglossa*, *Stryphnondedron barbatiman* e *Zingiber officinale R.*

Elementos	<i>Solano lycocarpum</i>	<i>Solidago microglossa</i>	<i>Stryphnondedron barbatiman</i>	<i>Zingiber officinale R.</i>
Al ($\mu\text{g/g}$)	15 ± 1	139 ± 5	52 ± 3	191 ± 15
Br ($\mu\text{g/g}$)	21 ± 1	39 ± 2	$7.5 \pm 0,4$	$17,9 \pm 0,9$
Ca (%)	$0,059 \pm 0,007$	$0,36 \pm 0,01$	$0,084 \pm 0,004$	$0,019 \pm 0,002$
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	307 ± 20	507 ± 30	191 ± 26	713 ± 58
Cl ($\mu\text{g/g}$)	6 ± 1	$8,80 \pm 0,03$	$4,6 \pm 0,5$	$1,08 \pm 0,09$
Co ($\mu\text{g/kg}$)	1324 ± 448	428 ± 46	55 ± 5	256 ± 18
Cr ($\mu\text{g/g}$)	$3,4 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,1$	$0,25 \pm 0,03$	$2,9 \pm 0,4$
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	265 ± 12	1127 ± 17	420 ± 4	31 ± 3
Fe ($\mu\text{g/g}$)	(c)	164 ± 17	30 ± 2	115 ± 12
Hg ($\mu\text{g/kg}$)	$6,3 \pm 0,9$			
K (%)	$2,35 \pm 0,08$	$3,1 \pm 0,2$	$0,67 \pm 0,02$	$4,6 \pm 0,4$
La ($\mu\text{g/kg}$)	220 ± 27	174 ± 19	(c)	335 ± 29
Mg ($\mu\text{g/g}$)	1174 ± 27	4328 ± 230	1053 ± 140	2082 ± 56
Mn ($\mu\text{g/g}$)	$8.7 \pm 0,8$	57 ± 2	$11.0 \pm 0,7$	259 ± 6
Na ($\mu\text{g/g}$)	211 ± 15	169 ± 7	157 ± 7	465 ± 19
Rb ($\mu\text{g/g}$)	60 ± 2	138 ± 2	24 ± 1	29 ± 2
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	18 ± 1	133 ± 5	28 ± 5	$19,7 \pm 0,6$
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	40 ± 7	32 ± 1	$6.6 \pm 0,4$	20 ± 1
Se ($\mu\text{g/kg}$)	13 ± 1			
Zn ($\mu\text{g/g}$)	59 ± 3	118 ± 7	$16,9 \pm 0,5$	75 ± 3

agente acumulador ou receptor de elementos traço dependendo da qualidade do ambiente externo (ar) em que esta planta foi cultivada, entretanto, ela pode também exercer controle sobre a aceitação ou rejeição de alguns elementos. A quantidade de elementos armazenados nas diversas partes da planta depende além do fator ambiente externo e da forma química em que estes elementos são encontrados.

Os teores dos elementos nas plantas dependem também do solo em que estas plantas foram cultivadas. Segundo Aidid⁽⁶⁵⁾ as concentrações de As, Br, Cr, Hg, Sb, Se, Sr e Zn aumentam com a poluição presente no local onde a planta fora cultivada devido, principalmente, à poluição do ar ou do solo e estes mesmos elementos não apresentam grandes variações entre folhas de diferentes espécies ou famílias. As concentrações de Fe, Co e Sc são altamente influenciadas pelo local onde a planta teve seu desenvolvimento. Os elementos As, Br, Cs, Hg, Sb e Zn parecem estar relacionados com a idade da planta e os elementos Ca, K, Na e Rb apresentam aproximadamente a mesma concentração para as folhas.

Conforme descrito no Capítulo 2 o equilíbrio dos metais presentes no solo e na planta é também controlado por reações de sorção e pela acidez do solo. Segundo Malavolta⁽⁴³⁾ os óxidos de Mn e Fe presentes no solo podem afetar significativamente as distribuições de metais traço na planta. Em geral, as raízes contém alta concentração de vários elementos e os frutos e sementes não apresentam grande enriquecimento.

No Brasil, vários centros de pesquisa têm realizado estudos sobre plantas medicinais, entretanto, dados sobre a análise elementar de extratos medicinais são bastante escassos para um estudo comparativo. O único trabalho encontrado para as plantas em estudo foi o de Zaidi e colaboradores⁽⁶⁶⁾ que analisaram no pó seco e moído do rizoma de *Zingiber officinale* (Ginger) os elementos Cr, Mn, Fe, Co, Zn, Na, K, As, Se, Hg, Sb, Cl, Br, Hf, Rb, Cs, Sc e Eu.

5.4 - Limite de detecção dos elementos

Em qualquer método analítico a determinação do limite de detecção tem grande importância, pois ele expressa a concentração ou massa mínima de um elemento que pode ser detectada pelo método analítico proposto. Este valor indica a sensibilidade de uma metodologia e portanto, a sua determinação é útil para avaliar a capacidade de diferentes métodos na análise de baixas concentrações de elementos.

Há várias maneiras para estimar o limite de detecção. No presente trabalho foi aplicado o critério de Curie⁽⁶⁷⁾. Curie conceitua três limites: limite de decisão (L_c), limite de detecção (L_d) e limite de determinação (L_q). O limite de decisão, também chamado de nível crítico, indica o nível para o qual permitirá o analista a decidir se um dado elemento

conduzirá à detecção. O limite de detecção indica o nível acima do qual o elemento pode ser detectado (distinguido da radiação de fundo) dentro de um nível de confiança. O limite de determinação indica o nível para o qual um elemento pode ser determinado quantitativamente dentro de uma precisão.

No presente trabalho foram determinados os valores do limite de determinação (Lq) aplicando-se a seguinte relação⁽⁶⁸⁾:

$$Lq = 50 \left\{ 1 + \left[1 + \mu_B / 12,5 \right]^{1/2} \right\}$$

onde Lq é o limite de determinação em contagens e

μ_B se refere à taxa de contagens obtida para o "branco", que no caso corresponde as atividades devido à radiação do fundo e as contribuições nas atividades provenientes da presença de outros radioisótopos presentes na matriz. O μ_B foi calculado somando os valores das contagens na região do pico de interesse nos espectros das amostras analisadas. Tendo o valor de Lq e conhecendo-se a massa do elemento no padrão bem como a sua taxa de contagens e a massa total da amostra, os valores dos limites de determinação, em termos de concentração, foram calculados pela comparação das taxas de contagens para o mesmo tempo de decaimento.

Tabela 5.13 - Limites de determinação dos elementos calculados segundo Curie⁽⁹⁷⁾

Elemento	Limite de determinação (extrato)	
Al (ppm)	45,3	(<i>Casearia sylvestris</i> , seca)
	72,5	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Br (ppm)	110	(<i>Casearia sylvestris</i> , seca)
	2,11	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Ca (%)	0,029	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Ce (ppb)	443	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Cl (ppm)	2,11	(<i>Casearia sylvestris</i> , seca)
	3,29	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Co (ppb)	45,6	(<i>Achyrocline saturoides DC</i>)
Cr (ppb)	760	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Cs (ppb)	41,4	(<i>Achyrocline saturoides DC</i>)
Fe (ppm)	2,6	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Hg (ppb)	54,3	(<i>Achyrocline saturoides DC</i>)
	65,0	(<i>Centella asiatica</i>)
K (ppm)	1222	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
La (ppb)	290	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Mg (ppm)	3799	(<i>Casearia sylvestris</i> , seca)
	3150	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Mn (ppm)	1,83	(<i>Casearia sylvestris</i> , seca)
	0,98	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Na (ppm)	169	(<i>Casearia sylvestris</i> , seca)
	176	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Rb (ppm)	5,85	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Sb (ppb)	61,0	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Sc (ppb)	3,4	(<i>Achyrocline saturoides DC</i>)
Se (ppb)	25,7	(<i>Centella asiatica</i>)
	28,8	(<i>Citrus aurantium L.</i>)
Zn (ppm)	1,33	(<i>Citrus aurantium L.</i>)

5.5 Funções dos elementos no organismo humano^(68,69)

São apresentadas neste item as funções biológicas dos elementos encontrados nos extratos de plantas medicinais e os seus efeitos no metabolismo humano. Atualmente, compostos de elementos tais como o Cr, Cu, Mg, Se e Zn são utilizados na medicina ortomolecular como agentes antioxidantes para reduzir ou neutralizar a ação dos radicais livres. Os elementos bi e trivalentes são também utilizados para neutralizar o excesso da acidez estomacal. Entretanto, não foram encontrados dados na literatura sobre as concentrações máximas dos elementos permissíveis para os fitofármacos. Portanto, para avaliar a toxicidade ou a essencialidade dos elementos foram utilizados dados publicados para o caso dos alimentos de acordo com as referências 68 e 69.

ALUMÍNIO

Este elemento é considerado como não essencial aos humanos e os indivíduos saudáveis parecem ter barreiras consideráveis em relação à absorção deste elemento. O efeito tóxico de uma excessiva quantidade de Al em pessoas com disfunções renais foi primeiramente manifestado nos tecidos dos ossos e nervos; com menor frequência em disfunções no sangue incluindo anemia microcítica, raquitismo e desordens no

metabolismo da hemoglobina. Talvez o maior aspecto da toxicidade do Al seja a suspeita da sua relação na patogênese da doença de Alzheimer, uma desordem neurodegenerativa onde não se conhece a etiologia e para a qual não há ainda um tratamento ou cura.

Devido este elemento ser moderadamente absorvido pelo intestino, valor de DL₅₀ para a ingestão de Al não é disponível, desde que mortes ocorrem pelo intestino devido a precipitação dos compostos do Al mais do que pela sua toxicidade sistêmica. A quantidade normalmente ingerida pelo ser humano varia de 1 a 100 mg/dia.

As concentrações de Al nos extratos variaram de 11,3 µg/g na *Achyrocline satureoides* DC a 1,3 mg/g na *Centella asiatica*. Há vários fatores que afetam a concentração do Al no solo e portanto, trata-se de um elemento de grande importância a ser quantificado nos extratos. No caso específico da *Centella asiatica* a concentração é da ordem de mg/g e portanto, no estabelecimento da dosagem do fitofármaco produzido a partir deste extrato, o teor de Al deverá ser considerado.

ANTIMÔNIO

Os compostos trivalentes deste elemento são mais tóxicos que os pentavalentes e os compostos deste elemento são levemente absorvidos pelo trato gastrointestinal. Este elemento se acumula nos ossos, dentes e cabelos.

Trata-se de um elemento não essencial para as plantas, animais ou homem e a ocorrência de intoxicações por este elemento é rara. Efeitos crônicos são: pneumonia, traqueíte, bronquite, erupções na pele e alergia e os sintomas de envenenamento são vômitos, diarreia, desidratação, náuseas e efeitos cardíacos.

Os teores encontrados de Sb para as plantas foi de 18 µg/kg para o extrato da *Solano lycocarpum* até 133 µg/kg para o extrato da *Solidago microglossa*.

BROMO

Desde que os brometos inorgânicos foram introduzidos em medicamentos na metade do século 19, intoxicações por Br⁻ com distúrbios mentais devido à sua acumulação foram relatados. Embora o uso de Br⁻ no tratamento da epilepsia e

para sedativo tenha sido reduzido, casos de overdoses de Br^- têm sido demonstrados.

O bromo puro apresenta um efeito irritadiço forte na pele e nas membranas das mucosas, em particular nos olhos e trato respiratório. Já pela acumulação de Br^- são raras as manifestações cutâneas (bromoderma tuberosum), que se torna aparente inicialmente como pápulas vermelhas desenvolvendo pústulas que se tornam endurecidas lesões. Estudos em ratos tem mostrado um limite efetivo de 400-1200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ na dieta. Concentrações acima de 2400 $\mu\text{g}/\text{l}$ de brometo no soro levam a sinais de descoordenação motora. Sintomas mentais de intoxicação em humanos são manifestados como letargia, instáveis ataques de dores de cabeça, perda de memória e concentração, desorientação, alucinações, etc. Algum distúrbio mental é usualmente provável de ocorrer quando a concentração de Br^- ultrapassa 1500 $\mu\text{g}/\text{l}$. Manifestações neurológicas de intoxicação por Br^- são ataxia, tremor e deficiências na fala enquanto que os reflexos são pouco afetados comumente.

A ingestão diária recomendada (ADI) para o brometo é de 1 mg de Br^-/kg de peso corporal e desta forma as concentrações encontradas nas plantas dificilmente causariam riscos ao homem.

As concentrações mínima e máxima de bromo encontrados nos extratos medicinais para este elemento foram 2,8 $\mu\text{g}/\text{g}$ na *Achyrocline satureoides* DC e 889 $\mu\text{g}/\text{g}$ na *Casearia sylvestris* fresca.

CÁLCIO

É o cátion mais abundante presente na forma de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) nos ossos e o quinto elemento mais comum do corpo humano. Ele não somente serve como principal componente do tecido esquelético, dando ao organismo a integridade estrutural essencial para suportar o crescimento do organismo, mas também age de maneira vital em vários processos fisiológicos e bioquímicos essenciais. As funções do íon cálcio incluem sua influência na coagulação do sangue, excitabilidade neuromuscular, falta de aderência celular, transmissão de impulsos nervosos, mantenedor das funções das membranas celulares e ativação de reações enzimáticas e secreção hormonal. O esqueleto, um enorme reservatório de complexos insolúveis de Ca, está em equilíbrio dinâmico com formas solúveis de circulação de Ca que são mantidas em níveis constantes.

O Ca é indispensável ao aproveitamento do P e para manter o equilíbrio do Fe no organismo. Além disso, a falta de Ca (hipocalcemia) pode levar à formação de catarata, paradas cardíacas, fraqueza nos ossos entre outros sintomas e seu excesso (hipercalcemia) resulta em náuseas, vômitos, cansaço geral, fraqueza muscular, cálculos renais podendo também ocorrer distúrbios mentais.

A necessidade de Ca num homem adulto varia entre 400 a 1300 mg/dia, mas a ingestão total deve ser de 1,0 a 1,5 g/dia.

Os extratos contém teores altos que variam de 0,019% na *Zingiber officinale* R. a 1,6% na *Centella asiatica*, por ser um elemento essencial para plantas. Estes altos teores de Ca podem explicar a ausência de efeitos colaterais de lesões estomacais nos extratos medicinais quando estes são ingeridos oralmente, mas deve-se verificar a dosagem a ser recomendada, pois, como as pessoas já ingerem uma determinada quantidade do elemento poderia ocorrer uma hipercalcemia.

CÉSIO

A maior parte dos sais de Cs podem ser considerados como não tóxicos. Entretanto, o hidróxido deste elemento tem sido considerado 10 vezes mais tóxico que o cloreto, brometo ou iodeto. A toxicidade aguda deste elemento tem sido registrada somente com concentrações muito altas (10^{-20} mmol Cs/kg) em ratos, e cujo sintoma é caracterizado pela depressão e ação depressão-excitação no sistema nervoso central. Os órgãos mais afetados parecem ser fígado, intestino, coração e rins. A meia-vida do césio no organismo é difícil de se determinar precisamente, mas varia em torno de 80 dias. Não foram encontrados dados para a ingestão máxima permitida.

Os valores para os extratos das plantas avaliadas variaram de 31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (*Zingiber officinale* Roscoe) a 1927 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (*Citrus aurantium* L.)

CLORO

É um elemento essencial para as plantas e para o homem, na forma de íon cloreto e, em geral, é ingerido na forma de cloreto de sódio. Participa no balanço da pressão osmótica no organismo e está presente no plasma e no fluido intersticial. Por deficiências no metabolismo o cloreto pode entrar na célula causando seu aumento.

A ingestão normal de cloreto varia de 85 a 145 meq/dia, embora esta quantidade varie em relação ao tipo de alimento e à adição de NaCl. Mudanças na concentração do íon cloreto no plasma seguem aquelas do sódio na hipotonicidade dilucional e desidratação. O excesso de cloreto no organismo (hipercloremia) ou sua falta (hipocloremia) é também causado por desarranjos no metabolismo que podem ter em suas causas desordens renais crônicas, vômitos entre outros.

Nos extratos medicinais a concentração de Cl encontrada variou de 0,41 $\mu\text{g}/\text{g}$ (*Achyrocline satureoides* DC) a 8,8 $\mu\text{g}/\text{g}$

(*Solidago microglossa*). O Cl nos extratos medicinais pode atuar na alteração da acidez estomacal.

COBALTO

A ingestão diária de Co foi estimada em aproximadamente 40 a 50 μg . Quando ingerido oralmente é fracamente absorvido pelo intestino e eliminado pela urina. No caso de uma deficiência em Fe, o Co é absorvido em maior extensão. Sendo um constituinte da vitamina B12, o Co é um elemento essencial. Cianocobalaminas e outros corrinóides são muito importantes para a vida humana, sendo essenciais para a produção de glóbulos vermelhos e agindo como coenzimas em vários processos bioquímicos. Entretanto, o Co é capaz de desenvolver ou elevar a hipertensão e a cardiopalmia⁽⁷⁰⁾.

Os compostos de Co solúveis parecem apresentar maior toxicidade que aqueles insolúveis. Doses diárias de 3 mg/kg de peso humano, o que significa 200 mg/dia (70 kg de peso) tem sido toleradas para pacientes com anemia.

A disponibilidade do Co nos vegetais está relacionada com o grau de acidez nos solos e aparentemente este elemento não é essencial às plantas também. O acúmulo para a maioria das plantas é baixo e são raros os casos onde os valores excedem 1 ppm. Para o extrato de *Solano lycocarpum* teores da

ordem de 1,3 µg/g foram encontrados indicando que estudos mais minuciosos deverão ser realizados na tentativa de se verificar a origem deste elemento nesta planta em particular.

Nos extratos a concentração mais baixa deste elemento foi de 20 µg/kg obtido para a *Achyrocline satureoides* DC.

CRÔMIO

O elemento Cr pode existir nos estados de oxidação de -2 a +6. O Cr^{3+} é fracamente absorvido pelo organismo independente da rota da administração enquanto que o Cr^{6+} é mais facilmente absorvido. O Cr desempenha um importante papel no organismo como o "fator de tolerância à glicose" para a transferência da glicose através da membrana.

Virtualmente, todos os alimentos e bebidas contém crômio em diferentes quantidades, entretanto a maioria deles contém 30-100 ng Cr/g de peso úmido. A ingestão média diária pela dieta está estimada como sendo aproximadamente 50 µg/dia. Embora o mecanismo de interação ainda não esteja completamente entendido, está claro que o Cr^{3+} é um elemento traço essencial para animais e humanos. Há uma evidência indireta que a deficiência em Cr em humanos leva a uma tolerância à redução de glicose e perda de peso, uma condição que pode ser aliviada com um suplemento em crômio. A U.S. Food and Nutrition Board

recomenda uma ingestão diária adequada e segura de 50-200 μg de Cr/dia, baseados em dados epidemiológicos de ingestão em populações com nenhum sinal de deficiência.

Os sintomas de intoxicação por crômio são conhecidos há 200 anos. Há casos de mutagênese, genotoxicidade, teratogenia, carcinogenia, lesões na pele e dermatites de contato. As doses orais que podem causar a morte em humanos está estimada em 1-3 g de Cr^{6+} . Os valores de DL_{50} variam grandemente conforme os animais estudados e as rotas de exposição. O LD_{50} oral dos diversos compostos de Cr^{6+} está estimado em 20-400 mg/kg para a maioria dos animais, enquanto que para o Cr^{3+} está estimado ser 100-2000 mg/kg. Desde que o crômio é absorvido pelo trato intestinal, a toxicidade do crômio é provavelmente o resultado de sangramento gastrointestinal mais que por envenenamento sistemático.

No presente trabalho a concentração mais alta de Cr foi obtida para o extrato de *Centella asiatica* (12,1 $\mu\text{g/g}$) e o menor para o extrato de *Stryphnondedron barbatiman* (0,25 $\mu\text{g/g}$). Portanto, no caso da *Centella asiatica* para a obtenção dos fitofármacos a partir do extrato desta planta é importante estabelecer a sua dosagem levando-se em conta o teor de Cr bem como a sua forma química, pois a toxicidade do Cr depende do seu estado de oxidação. Considero que se trata de grande interesse determinar a forma em que este elemento se encontra nos extratos medicinais.

Não foram encontrados dados sobre limites de tolerância deste elemento em qualquer tipo de matriz.

O Sc foi encontrado nos extratos das plantas a nível de $\mu\text{g}/\text{kg}$ e o máximo encontrado foi de 125 para a *Centella asiatica* e em alguns extratos como da *Casearia sylvestris* seca e *Citrus aurantium L.* este elemento não foi detectado.

FERRO

Os compostos com Fe participam de numerosas reações de oxi-redução, começando com a redução do hidrogênio e sua incorporação nos carboidratos durante a fotossíntese na presença de ferredoxinas. O metabolismo aeróbico é dependente do Fe devido a seus grupos funcionais e como carregador de elétrons nos citocromos. É essencial para as formas de vida vertebradas devido ao sistema de transporte de elétrons do oxigênio.

Há no organismo dois compartimentos funcionais para o Fe: (1) - essencial na hemoglobina e mioglobina, (2) - estocagem não essencial encontrada no fígado, ossos, etc.

A deficiência em Fe compromete a produção de hemoglobina, levando a anemia pela redução da hemoglobina

no sangue, fadiga, fraqueza, palpitações bem como as unhas tornam-se finas e quebradiças. O excesso de Fe pode também levar a uma desordem séria e às vezes letal devido à ocorrência de desordem genética ou falhas de metabolismo. A ingestão diária de Fe deve ser entre 10 e 30 mg, sendo a dose diária recomendada (RDA) igual a 18 mg/dia.

Nos extratos este elemento variou de 7,3 µg/g na *Citrus aurantium L.* a 1742 µg/g na *Casearia sylvestris* seca e para a *Solano lycocarpum* não foi detectado.

LANTÂNIO e CÉRIO

Embora a toxicidade das terras raras seja baixa, segundo o sistema de classificação de Hodge-Sterner, as doses agudas letais nos ratos para uma série de sais, administrados oralmente, variam de 10 000 mg/kg para o acetato de lantânio e 4 500 mg/kg para o nitrato de lantânio.

Dados específicos sobre os limites de teores de terras raras permitidos para os seres humanos não tem sido divulgados.

Os limites de La encontrados nos extratos analisados foram de 112 µg/g para a *Casearia sylvestris* (fresca) a 749 µg/g para a *Centella asiatica*.

Para o Ce a concentração nos extratos variou de 191 µg/kg para a *Stryphnondedron barbatiman* até 1544 µg/kg na *Centella asiatica*, sendo que na *Achyrolcline satureoides* DC não foi detectado.

MAGNÉSIO

É o quarto cátion mais abundante no organismo humano sendo sua presença como a do cálcio limitada pela absorção intestinal sendo inicialmente acumulado nos ossos e em pequena extensão nos fluidos extracelulares. É aparente que a deficiência do magnésio afeta o controle homeostático dos íons Ca^{2+} , K^{+} e Na^{+} .

A dosagem diária recomendada (RDA) para o Mg depende da faixa etária do indivíduo: para crianças de 40-250 mg/dia, para adolescentes e adultos de 300 a 400 mg/dia e para gestantes 450 mg/dia.

O Mg desempenha um papel chave em todas as reações dos fosfatos, diminui o risco de infarto do miocárdio e é portanto, um elemento importante para o coração e todo o

sistema circulatório, prevenindo o aumento da pressão arterial.

Além disso, o Mg apresenta um importante papel no metabolismo intermediário de pelo menos 300 reações. Ele está envolvido na fosforilação, no metabolismo anaeróbico e na descarboxilação da glicose e também na degradação de ácidos graxos, na ativação de aminoácidos e na síntese e degradação do DNA. Há evidências do transporte hormonal do Mg^{2+} na membrana plasmática e tem sido sugerido que este elemento atua como mensageiro intracelular para integração de sinais fisiológicos opostos. A combinação dos elementos Mg e Ca atua em vários ciclos do organismo.

A deficiência em magnésio pode causar eritema intenso, mudanças neuromusculares, redução no crescimento, lesões na pele, mudanças renais. Podem ocorrer também convulsões com ou sem coma, mudanças de personalidade, doenças nas artérias ou coronárias. O Mg ajuda nas arritmias cardíacas e hipertensão.

O excesso de Mg pode até ter efeito letal. É um anestésico e depressor do sistema nervoso central a menos que aplicado intraventricularmente ou direto no sistema nervoso.

Nos extratos foi encontrado em concentrações de 990 $\mu\text{g/g}$ (*Achyrocline satureoides* DC) a 4407 $\mu\text{g/g}$ (*Citrus aurantium* L.). Este é um elemento essencial para as plantas e está presente em altas concentrações nestes materiais de

origem vegetal. A alta concentração deste elemento nas plantas medicinais pode explicar a ausência de efeitos colaterais como as da lesões estomacais. O Mg ajuda a manter o equilíbrio ácido-base no organismo. Os sais de Mg juntamente com os de Ca são utilizados nos doenças como a osteoporose.

MANGANÊS

O Mn é um elemento considerado essencial aos animais e usado como agente antioxidante. Este elemento ocorre em vários estados de oxidação, mas as formas de maior interesse biológico são o Mn^{2+} e o Mn^{3+} . Pelos testes laboratoriais *in vitro* o íon Mn^{2+} pode agir como um metal não específico ativador de várias enzimas, particularmente, pela substituição do Mg^{2+} , embora esta troca ainda não tenha sido completamente elucidada *in vivo*. As duas metaloenzimas mamárias que contém o Mn, a piruvato carboxilase e superoxidase desmutase, estão localizadas na mitocôndria, a organela celular que contém o maior nível de Mn. O Mn também pode ativar várias enzimas conhecidas como glicosiltransferases.

Alguns sinais de deficiência em Mn podem ser observados: defeitos esqueléticos como encurtamento nos ossos longos e malformação do crânio. Desta forma, o Mn é muito importante para a gestante durante o período de

formação do feto. Os efeitos deletérios na deficiência do Mn na função reprodutiva podem ser causados pela interferência na síntese de hormônios sexuais. Embora sua deficiência tenha sido verificada em várias espécies de animais e em humanos, estudos a este respeito são muito restritos.

A quantidade de Mn necessária foi observada com sendo de 2,5 a 3,0 mg/dia. O mínimo necessário em homens foi avaliado em 2,1 mg/dia. A quantidade segura e adequada para ingestão é de 2,5 a 5,0 mg/dia segundo o National Research Council⁽⁶⁹⁾ e o valor do RDA é 3,8 mg.

Nos extratos a concentração do Mn variou de 0,96 µg/g (*Achyrocline satureoides* DC) a 297 µg/g (*Citrus aurantium* L.).

MERCÚRIO

A via mais comum para a absorção deste elemento pelo organismo é pelos pulmões, na forma de vapor de Hg. No organismo o mercúrio elementar é oxidado a Hg^{2+} cuja reação limita mas não evita o acúmulo deste elemento no cérebro. O Hg^{2+} e seus compostos orgânicos estão principalmente ligados à grupos tióis. Enquanto que a afinidade de proteínas pelo Hg^{2+} e CH_3Hg^+ são quase idênticas, a cisteína e provavelmente outros compostos de tiol com baixo peso

molecular, apresentam uma maior afinidade pelo CH_3Hg^+ . A reação de compostos de Hg com Se^{2+} resultam em um colóide estável, o HgSe , o que sugere o Se^{2+} como um antídoto contra os efeitos do Hg^{2+} . Após uma dose oral traço de mercúrio na forma de Hg^{2+} , 0,17% da dose é excretada pela urina em 7 dias.

A ingestão diária de Hg a partir de alimentos terrestres é muito difícil, entretanto, pode ocorrer nos casos em que há consumo de alimentos tratados com fungicidas a base de mercúrio ou no caso da ingestão de peixes contaminados de Hg provenientes da região garimpeira.

A Organização Mundial da Saúde (WHO) apresentou como limite superior o valor de $1,0 \mu\text{g Hg/l}$ para a água potável e a FAO/WHO sugeriam que uma ingestão provisória semanal tolerável seria $300 \mu\text{g}$ de Hg em que não mais de $200 \mu\text{g}$ deva estar presente na forma de metilmercúrio já que este é um elemento altamente tóxico. O mercúrio é um elemento acumulativo e o seu efeito sobre tecidos dos nervos e fibras musculares pode afetar o sistema nervoso central.

Nos extratos os valores limites de Hg encontrados foram de $6,3 \mu\text{g/kg}$ para *Solano lycocarpum* e $1020 \mu\text{g/kg}$ para *Achyrocline satureoides DC.*

POTÁSSIO

O K participa juntamente com o sódio no balanço ácido-base do organismo e influi no ritmo cardíaco, é necessário para o funcionamento dos nervos, para o metabolismo de glicídios e no metabolismo do oxigênio a nível cerebral. Como a quantidade de K presente no organismo é controlada pelo metabolismo da pessoa não tem sentido em se comentar sobre toxicidade, mas sim as suas causas mais frequentes devido ao excesso ou falta de K no organismo. A ingestão diária média é de 2 a 4 g por dia.

O excesso de K (hipercalemia) tem como causas principais o decréscimo na excreção do potássio, provocando sonolência, arritmias e desorientação.

A falta de K no organismo (hipocalemia) tem como principais causas uma ingestão pequena de K, perdas pelo trato intestinal, perdas renais pela desidratação e alterações metabólicas com perdas do K secundário usualmente de origem renal por fome, trauma cirúrgico, alterações de pH, deficiência de Mg.

Nos extratos a variação na concentração de K foi de 0,67% na *Stryphnondedron barbatiman* a 9,4% na *Citrus aurantium L.* O K nas drogas é usado para eliminar catarro e como tonificante para o estômago⁽²³⁾.

RUBÍDIO

A ingestão média deste elemento pela dieta é de aproximadamente 2,5 mg/dia. Este elemento constitui um íon intracelular. Sua toxicidade em ratos é manifestada por uma dificuldade em ganhar peso. Outros sinais são ataxia e hiperirritabilidade, assim como ulcerações na pele e sensibilidade levando à convulsão e morte.

A relação entre os teores de Rb e K é importante na avaliação da toxicologia deste elemento, que se torna tóxico quando esta relação intracelular excede de 40%.

Para o Rb não se encontrou valores de níveis de tolerância para a ingestão e as concentrações nos extratos estudados variaram de 24 µg/g para o caso do *Stryphnondedron barbatiman* a 548 µg/g para o extrato da *Achyrolcline satureoides DC*.

SELÊNIO

O Se é um elemento essencial mas dentro de uma faixa de concentração muito estreita. A baixa concentração causa a deficiência no corpo e a overdose leva ao envenenamento. Os seus estados de oxidação importantes

biologicamente são 6+, 4+ e 2-. Selenato de sódio, selenito de sódio e selenometionina são potencialmente similares para prevenir necrose em fígado de ratos ao passo que o Se elementar é inerte nutricionalmente devido à sua insolubilidade. É encontrado como selenocisteína na enzima glutathiona peroxidase nos humanos e em outros mamíferos. Esta enzima protege o organismo contra danos oxidativos pelos lipoperóxidos ou peróxido de hidrogênio. Várias enzimas são dependentes do Se (hidrogenase, tiolase e outras). A falta de Se no organismo causa retardamento no crescimento, queda de cabelo, necrose no fígado, hemólise, degeneração no rim e outros. Também é especulada que a deficiência em Se leva a uma menor resistência contra infecções e sua relação com desordens no coração (arteriosclerose).

Devido a grande variação na quantidade de Se encontrada no solo em diferentes regiões, a ingestão diária pode ser acima ou abaixo do limite recomendado, que é de 50 a 200 $\mu\text{g}/\text{dia}$. A maioria dos compostos de Se solúveis em água são facilmente absorvidos no trato gastrointestinal.

Os efeitos principais de intoxicação por Se são: danos nas unhas, lesões na pele, distúrbios neurológicos, convulsões, paralisia, distúrbios motores entre outros.

A National Research Council estabeleceu a ingestão diária adequada e segura para adultos de 50 a 200 $\mu\text{g}/\text{dia}$. A ingestão de aproximadamente 50 $\mu\text{g}/\text{dia}$ parece suficiente para evitar a deficiência em adultos. A ingestão diária de

4,99 mg foi estimada em áreas onde ocorria selenose, entretanto, uma ingestão diária de 1 mg de selênio como selenito pode ser tóxica.

A concentração encontrada nos extratos variou de 13 µg/kg para a *Solano lycocarpum* a 151 µg/kg para a *Citrus aurantium L.*

SÓDIO

Os íons Na^+ são entre todos os cátions presentes no organismo aquele que se apresenta em maior quantidade. O Na está presente no fluido extracelular e no plasma e a sua ingestão é regulada pelos costumes, sabor e hábitos alimentares e não pela necessidade. O mínimo necessário para o organismo é de aproximadamente 1g por dia para adultos ativos normais em clima temperado. O Na no corpo humano participa no controle da pressão osmótica, na produção de adrenalina e aminoácidos, participa no balanço ácido-base no organismo, faz parte integrante da composição do plasma, do fluido intersticial e este elemento está presente na água das células. O Na também participa no balanço normal da água e eletrólitos entre as células e o líquido intersticial.

A ingestão de uma quantidade menor que 0,3g por dia de Na não é tolerada pela maioria das pessoas. Com

relação à toxicidade deste elemento nenhum estudo sugere tal ocorrência.

Para os extratos estudados a concentração variou de 75 µg/g na *Achyrocline satureoides* DC a 3603 µg/g na *Casearia sylvestris* seca.

ZINCO

O Zn é um dos elementos mais importantes e essenciais ao organismo humano.

No processo da passagem gastrointestinal e digestão de um alimento, o Zn^{2+} é presumivelmente liberado das matrizes alimentares originais. Desta forma, ele está livre para formar complexos de coordenação com ligantes exógenos e endógenos. Certas influências hormonais associadas ao "stress" aumentam a eficiência da absorção de zinco e este elemento desempenha uma importante função contra a fadiga.

O Zn apresenta quatro funções principais no metabolismo mamário:

- 1 - como um componente das metaloenzimas que o contém;
- 2 - na conformação dos polissomos;
- 3 - na estabilização das membranas e

4 - em diversas funções como ion livre dentro das células.

Sua principal função é como constituinte das metaloenzimas, que muitas vezes contém mais de uma espécie metálica. Há aproximadamente 120 enzimas que possuem o zinco e algumas delas são classificadas como "dependentes do zinco". A interação do zinco com a vitamina A também foi verificada.

As consequências da falta de zinco são falhas no crescimento, lesões na pele, cegueira noturna, deficiências imunológicas, distúrbios no comportamento, atraso no amadurecimento sexual, redução do apetite entre outros.

A toxicidade do zinco pode ser aguda ou crônica. Tomado oralmente em doses acima de 25 mg/dia pode produzir náuseas, sabor metálico e dores gástricas. Doses de 225 a 450 por dia provocam vômitos. A ingestão crônica (5g de Zn diária) pode ocasionar deficiências em cobre e anemia e uma administração a longo prazo de Zn de 150 mg/dia pode provocar o mesmo resultado além de uma erosão gástrica.

A quantidade de zinco que pode ser ingerida difere muito entre as espécies animais e também dentro de uma mesma espécie. Para o ser humano a ingestão média deve ser de 15 mg/dia.

Este elemento foi encontrado em todos os extratos visto ser necessário fisiologicamente para as plantas. A

concentração nos extratos variou de 16,9 $\mu\text{g/g}$ (*Stryphnondedron barbatiman*) a 577 $\mu\text{g/g}$ (*Centella asiatica*). Os remédios contendo Zn são usados no tratamento e prevenção de úlceras⁽²³⁾ e para o tratamento de ferimentos.

5.6 - Conclusões

Pelos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que o método de ativação utilizado foi adequado para a análise elementar dos extratos de plantas medicinais. Tanto o método instrumental como o de separação radioquímica permitiram a obtenção de resultados satisfatórios com relação à precisão e exatidão, o que pôde ser comprovado pela análise dos materiais certificados de referência. Também os resultados dos valores de limite de determinação indicaram a viabilidade do uso deste método devido à possibilidade de detecção de baixas concentrações de elementos.

O grande número de elementos encontrados nos extratos medicinais indicam a importância de se realizar sua análise elementar uma vez que, estes elementos podem ser tóxicos ao organismo humano ou essenciais quando presentes dentro de uma certa faixa de concentração.

Além disso, considero que os dados de análise apresentados neste trabalho poderão constituir uma

importante contribuição ao estudo destas plantas medicinais, principalmente, nas suas pesquisas farmacológicas e na identificação dos princípios ativos.

Como a toxicidade ou a essencialidade de um dado elemento depende da sua forma química, a especificação destes elementos considero que poderá constituir um amplo campo de pesquisa a ser ainda explorado. Também o estudo das correlações existentes entre o valor medicinal das plantas e o ambiente onde fora cultivada com todas as suas variáveis é de grande importância para posteriormente manter a constância na produção dos princípios ativos.

Concluindo pode-se afirmar que o método de análise por ativação proposto neste trabalho poderá ser de grande valia para o estudo sistemático dos elementos nas plantas medicinais brasileiras, bem como, no controle da qualidade dos fitofármacos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - WAGNER H.; HIKINO, H.; FARNSWORTH, N.R. *Economic and medicinal plant research*. Orlando, Florida, v.I, Academic Press Inc. 1985, p.53-55.
- 2 - FALCÃO, E.C. Plantas medicinais do Brasil, Vol.V - Bernardino Antônio Gomes. *Brasiliensia Documenta*, SP - Brasil, 1972.
- 3 - DREWITT, P.N.; BUTTERWORTH, K.R.; SPRINGALL, C.D.; MOORHOUSE, S.R. Plasma levels of aluminium after tea ingestion in healthy volunteers. *Fd.Chem.Toxic.* Bl v.1, p.19-23, 1993.
- 4 - JIN RUI, D. Cytotoxic constituents of three South American and Indonesian medicinal plants. *Diss. Abstr. Int.* v.53, n.5, 1992 apud *Chem. Abstr.* v.120, n.8, 86211a, 1994.
- 5 - SERTIÉ, J.A.A.; BASILE, A.C.; OSHIRO, T.T.; SILVA, F.D.; MAZELLA, A.A.S. Preventive anti ulcer activity of the rhizome extract of *Zinziber officinale*. *Fitoterapia*, v.LXIII, n.1, p.55-59, 1992.
- 6 - NALINI, K.; AROOR, A.R.; KARANTH, K.S.; RAO, A. Effect of *Centella asiatica* fresh leaf aqueous extraction on learning and memory and biogenic amine turnover in albino rats. *Fitoterapia*, v.LXIII, n.3, p.232-237, 1992.
- 7 - Scientists meet on herbal medicine. Scientists develop herbal medicine guidelines. *Fitoterapia*, v.XII, n.3, p.195, 1991.
- 8 - BLUNDEN, G.; POWELL, M.T.G. Problems associated with the development of new medicinal products from natural sources. *Gyogyszereszet* v.37, n.4, p.207-12, 1993 apud *Chem. Abst.* v.119, n.12, 124898u, 1993.

- 9 - TYLER, U.E. Phytomedicines in Western Europe: potential impact on herbal medicine in the United States. *ACS Symp. Ser.* v.534 (Human medicinal agents from plants), 1993. apud *Chem. Abst.* v.119, n.22, 233737m, 1993.
- 10 - SAITO, K. Genetic engineering in tissue culture of medicinal plants. *Shokubutsu Soshiki Baujo* v.10, n.1, p.1-8, 1993 apud *Chem. Abst.* v.119, n.11, 109923e, 1993.
- 11 - YAMADA, Y. Molecular biology in medicinal plants. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* v.67, n.6, p.969-71, 1993 apud *Chem. Abst.* v.119, n.7, 68025t, 1993.
- 12 - GENTRY, A.H. Tropical forest biodiversity and potential for new medicine plants. *ACS Symp. Ser.* 534 (Human medicinal agents from plants), 1993 apud *Chem. Abst.* v.119, n.20 210326n, 1993.
- 13 - WALDHEIM. Recovery of medicinal substances from plants. *Pharmatec GmbH Ger. Offen.* DE 4.211.296 (Cl.A61K35/79), 07oct1993 apud *Chem. Abst.* v.119, n.22, 234014k, 1993.
- 14 - O'NEILL, M.J.; LEWIS, J.A. The renaissance of plant research in the pharmaceutical industry. *ACS Symp. Ser.* v.534 (Human medicinal agents from plants), 1993 apud *Chem. Abst.* v.119, n.24, 256329u, 1993.
- 15 - SINGH, A.; MAHEY, R.K. Fertilizer use in *Umbellifereae* medicinal and aromatic plants of India. *Fert. News* v.37, n.10, p.39-45, 1992 apud *Chem. Abst.* v.119, n.15, 159113m, 1993.
- 16 - CARLE, R.; GLENK, H.G; GOMAA, K.; MUELLER, H. Cryopreservation of medicinal plants. Principles and applications. *Pharm. Unserer Zeit* v.22, n.2, p.79-93, 1993 apud *Chem. Abst.* v.120, n.6, 61971k, 1994.
- 17 - MORENO, A.M.; PEREZ, L.; GONZALEZ, J. Relationships between total contents of zinc, lead, copper and cadmium

- in soils and plants. *Suelo Planta* v.2, n.4, p.757-71, 1992 apud *Chem. Abst.* v.119, n.1, 7954y, 1993.
- 18 - IQBAL, M.Z.; QADIR, M.A. Determination of Br, Rb, Cs, Sc and Na in various plant leaves located in an urban park by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Letters* v.145, n.3, p.189-195, 1990.
- 19 - IQBAL, M.Z.; QADIR, M.A. Determination of Hg, Co, Cr, Zn and Fe in various plant leaves using neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters*, v.144, n.1, p.35-45, 1990.
- 20 - SZIKLAI, I.L.; ÖRGÖGH, M.; MOLNÁR, E.; SZABÓ, E. Distribution of trace and minor elements in Hungarian spice paprika plants. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.122, n.2, p.233-38, 1988.
- 21 - RAJURKAR, N.S.; BHAMARE, C.S. Thermal neutron activation analysis of different varieties of mustard and sunflower seeds. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters*, v.154, n.6, p.427-34, 1991.
- 22 - WANG, C.F.; KE, C.H.; YANG, J.Y. Determination of trace elements in drinking tea by various analytical techniques. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.173, n.1, p.195-203, 1993.
- 23 - CHEN, K.; TSENG, C.; LIN, T. Trace elements in natural drugs determined by INAA. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.170, n.1, p.265-80, 1993.
- 24 - ZHANG, X.; MA, J.; QIN, J.; XIAO, L. Multivariate statistical treatment of PIXE analysis of some traditional Chinese medicine. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.151, n.2, p.319-25, 1991.
- 25 - YE, Y.; HUANG, S. Determination of trace elements in traditional Chinese medicines. *Fenxi Shiyanshi* v.12,

- n.5, p.70-2, 1993 apud *Chem. Abst.* v.120, n.6, 62482p, 1994.
- 26 - BUMBÁLOVÁ, A.; KOMOVÁ, M.; DEJMKOVÁ, E. Identification of elements in plants drugs and their water infusion using X-ray fluorescence analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters*, v.166, n.1, p.55-62, 1992.
- 27 - FANKANKUN, O.A.; OLUYEMI, E.A.; AKANLE, O.A. Neutron activation analysis of the ashes of some medicinally used tropical woods. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.169, n.2, p.277-82, 1993.
- 28 - KANIAS, G.D.; TSITSA, E.; LOUKIS, A.; KILIKOGLU, V. Determination and statistical analysis of trace element and active constituent concentration in medicinal plant *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh (E.Rostratus Schlecht). *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.169, n.2, p.483-91, 1993.
- 29 - KAMEOKA, H. Aroma of medicinal herb around *Umbelliferae* plant. *Koryo* n.179, p.73-84, 1993 apud *Chem. Abst.* v.119, n.26, 278477t, 1993.
- 30 - LOVKOVA, M.Y.; SHELEPOVA, O.V.; SOKOLOVA, S.M.; SABIROVA, N.S.; RABINOVISH, A.M. Selenium in medicinal plants of the Russian flora. *Izv. Akad. Nauk., Ser. Biol.* v.6, p.833-8, 1993 apud *Chem. Abst.* v.120, n.8, 86209f, 1994.
- 31 - SAIKI, M.; VASCONCELLOS, M.B.A.; SERTIÉ, J.A.A. Determination of inorganic components in Brazilian medicinal plants by neutron activation analysis, *Biol. Trace Elem. Res.*, n.26-27, p.743-50, 1990.
- 32 - GREENBERG R.R. Elemental characterization of the National Bureau of Standard milk powder standard reference material by instrumental and radiochemical material activation analysis. *Anal. Chem.*, n.58, p.2511-16, 1986.

- 33 - SANGUINETTI, E.E. Plantas que curam e sua influência astral. Rigel Editora, Brasil, 1989.
- 34 - O poder das plantas, Editora Globo, São Paulo, (1986, 1991).
- 35 - GARCIA, G.H.; CAMPOS, R.; TORRES, R.A.; BROUSSALIS, A.; FERRARO, G.; MARTINO, V.; COUSSIO, J. Antiherpetic activity of some Argentine medicinal plants. *Fitoterapia* v.LXI, n.6, p.542-6, 1990.
- 36 - BASILE, A.C.; SERTIÉ, J.A.A.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T.T. AZZOLINI, C.A. Pharmacological assay of *Casearia sylvestris*. I: preventive anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. *J.Ethnopharm.*, n.30, p.185-97, 1990.
- 37 - NALINI, K.; AROOR, A.R.; KARANTH, K.S.; RAO, A. Effect of *Centella asiatica* fresh leaf aqueous extract on learning and memory and biogenic amine turnover in albino rats. *Fitoterapia*, v.LXII, n.3, p.232-7, 1992.
- 38 - DIWAN, D.V.; KARWANDE, I.; SINGH, A.K. Anti-anxiety profile of Manduk Parni (*Centella asiatica*) in animals. *Fitoterapia*, v.LXIII, n.3, p.253-7, 1991.
- 39 - SAKINA, M.R.; DANDUJA, P.C. A psycho-neuropharmacological profile of *Centella asiatica* extract. *Fitoterapia*, v.LXI, n.4, p.291-6, 1990.
- 40 - VOHORA, S.B.; DANDUJA, P.C. Herbal analgesic drugs. *Fitoterapia*, v.LXIII, n.3, p.197-207, 1992.
- 41 - MUKHERJEE, T. Antimalarial herbal drugs. A review. *Fitoterapia*, v.LXII, n.3, p.197-203, 1991.
- 42 - MALAVOLTA, E. Manual de Química Agrícola, vol.1 - Nutrição da plantas e fertilidade do solo. Ed. Agromômica Ceres. São Paulo, 1976

- 43 - Apostila do curso regional de treinamento sobre técnicas analíticas aplicadas a agroindústria e análise de alimentos, (AIEA - ARCAL IV), Divisão de Radioquímica, 1988.
- 44 - MELONI, S.; BRANDONE, A. The behavior of 14 radionuclides on MnO_2 columns. *Radiochim. Acta*, v.10, p.97-100, 1969.
- 45 - BIBLIOCCA, C.; GIRARDI, F.; PAULY, J.; SABBIONI, E.; MELONI, S.; PROVASOLI, A. Radiochemical separations by adsorption on manganese dioxide. *Anal. Chem.* v.39, n.13, p.1634-9, 1967.
- 46 - GIRARDI, F.; PIETRA, R.; SABBIONI, E. Radiochemical separation by retention on ionic precipitate adsorption tests on 11 materials. *J. Radioanal. Chem.* v.5, p.141-71, 1970.
- 47 - WYTENBACH, A.; BAJO, S. Extractions with metal-dithiocarbamates as reagents. *Anal. Chem.* v.47, n.11, p.1813-7, 1975.
- 48 - ALFASSI, Z.B. *Activation Analysis, Vol.II*, CRC Press, Florida, p.398, 1990.
- 49 - YU, J. C.; LO, J. M.; WAI, C. M. Extraction of gold and mercury from sea water with bismuth diethyldithiocarbamate prior to neutron activation - γ spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, v.154, n.307-12, 1983.
- 50 - FARMACOPÉIA BRASILEIRA OFICIALIZADA PELO GOVERNO FEDERAL; Decreto no. 78840 de 25 de novembro de 1976. 3a. ed. Andrei Editora S.A., São Paulo, 1977, 946.
- 51 - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory. IAEA. TECDOC. 564, ISSN 1011-4289, Vienna, 1990.

- 52 - NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES.
Environmental Agency of Japan. Certificate for NIES
certified material no. 1 "Pepperbush" 1980.
- 53 - NATIONAL BUREAU OF STANDARDS. Certificate of analysis
standard reference material 1572 "Citrus Leaves", 1982.
- 54 - ROSAIN, S.N.; WAI, C.M. The rate of loss of mercury
from aqueous solution when stored in various containers.
Anal. Chim. Acta, n.65, p.279-84, 1973.
- 55 - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (Austria):
Information sheet for reference material MA-A-1, Copepod
Homogenate, IAEA, Monaco.
- 56 - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (Austria):
Information sheet for reference material MA-A-2, Fish
Flesh Homogenate, IAEA, Monaco.
- 57 - NALIMOV, V.V. The application of mathematical
statistics to chemical analysis, Addison-Wesley
Publishing Company, Inc. Reading, Massachusetts, 1963.
- 58 - BECKER, D.A. Instrumental neutron activation analysis
errors and interference during the certification
analysis of NIST SRM 1573 Tomato Leaves. Transactions 65
TANSO, n.65 p.168-9, 1992, Annual meeting: American
Nuclear Society, Boston, 7-12 junho, 1992.
- 59 - LANDSBERGER, S.; ARENDT, A.M., Non-destructive
determination of aluminum in biological reference
samples using neutron activation analysis. *J. Radioanal.
Nucl. Chem., Letters*, v.137, n.6, p.443-54, 1989.
- 60 - GREENBERG, R.R.; ZEISLER, R. A radiochemical procedure
for ultratrace determination chromium in biological
materials. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.124,
n.1, p.5-20, 1988.

- 61 - LAVI, N.; LUX, F.; ALFASSI, Z.B. Determination of Mg, Al, P, Cu and Mn in biological fluids by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.129, n.1, p.93-101, 1989.
- 62 - TORO, E.C.; PARR, R.M.; CLEMENTS, S.A. Biological environmental reference materials for trace elements, nuclides and organic microcontaminants. IAEA/RL (rev.1). International Atomic Energy Agency, p.37, 1990.
- 63 - ZHUANG, G.; WANG, Y.; ZHI, M.; ZHOU, W.; YIN, J.; TAN, M.; CHENG, Y. Determination of As, Cd, Hg, Cu and Zn in biological samples by radiochemical neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.129, n.2, p.459-64, 1989.
- 64 - TRAN VAN, L.; TEHERANI, D.K., Determination of Au, Sb, As, Br, Na, K, Cd, Mn and Cl in rice from Vietnam by neutron activation analysis, *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters*, v.128, n.1, p.43-51, 1988.
- 65 - AIDID, S.B., Determination of trace elements in leaves of tropical trees in Malaysia by neutron activation analysis, *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles*, v.120, n.2, p.335-44, 1988.
- 66 - ZAIDI, J.H.; QURESHI, M.; FATIMA, I. Trace element analysis of food spices by INAA. II - *Solanacea, Liliaceae, Zingiberaceae* and *Apiaceae* families. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, v.48, p.33-40, 1992.
- 67 - CURIE, L.A. Limits for qualitative detection and quantitative determination. *Anal. Chem.* v.40, n.3, p.586-93, 1968.
- 68 - SEILER, H.G.; SIGEL, H.; SIGEL, A. Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds. Marcel Dekker, Inc., New York, 1988.

- 69 - TOLONEN, M. Vitaminas y minerales en la salud y la nutrición. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España, 1995.
- 70 - EL-MANI, F.A., EL-SALTANI, H.A., DOGADKIN, N.N.; ASHOUR, I.A. Determination of trace elements in normal and diabetic whole blood by neutron activation analysis. *Biol. Trace Elem. Res.*, v.43-45, p.383-8, 1995.

APÊNDICE 1 - Características das plantas medicinais
brasileiras analisadas.

Nome científico	Familia	Nome popular	Usos	Parte da planta utilizada
<i>Achyrocline satureoides</i> DC	<i>Compositae</i>	macela, marcela, paina	analgésica, sedativa, sudorífera, bactericida	partes aéreas
<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Flacourtiaceae</i>	guaçatonga, guaça, erva de lagarto	anti-séptica, cicatrizante, anti úlceras	folhas secas e frescas
<i>Centella asiatica</i>	<i>Umbelliferae</i>	cairuçu, pé-de- cavalo	no tratamento de celulite, cicatrizante e em regimes de emagrecimento	folhas
<i>Citrus aurantium L.</i>	<i>Rutaceae</i>	laranja azeda, laranja amarga	contra acidez estomacal, antioxidante	casca da fruta
<i>Solanum lycocarpum</i>	<i>Solanaceae</i>	fruto do lobo, lobeira	sedativo, diurético	frutos
<i>Solidago microglossa</i>	<i>Compositae</i>	arnica-do-Brasil	antinflamatório	parte aéreas
<i>Stryphnodendron</i> <i>barbatiman</i>	<i>Leguminosae</i>	barbatimão, uabatimão, barba de Timão	anti hemorrágico, tônico, depurativo, cicatrizante	casca da arvore
<i>Zingiber officinale R.</i>	<i>Zingiberaceae</i>	gingibre, gengivre, mangaratiá	antioxidante, cicatrizante, carminativo, contra diarreia e úlceras	rizomas



M21014



*Cidade Universitária - "ARMANDO DE SALLES OLIVEIRA"
Travessa R nº 400 - Caixa Postal 11049 - Pinheiros
Telefone (PABX) 211-6011 - End. Telefônico IPENUCLEAR
Telex (11)83592 - IPEN - BR
São Paulo - Brasil*

