

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

Manuel Octávio M. Ferreira, Ivone Mulako Sato e Vera Lúcia R. Salvador

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)
Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA)
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP
lawless@usp.br

RESUMO

As concentrações dos elementos Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr foram determinadas para as espécies *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão), *Ginkgo folium* (Ginkgo biloba), *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro), *Valeriana officinalis* (Valeriana), *Cordia salicifolia* (Porangaba). As espécies foram obtidas amostradas nas formas “in natura” (folhas, flores, caules e sementes) e em pó (cápsulas) para diferentes procedências comerciais.

A determinação dos elementos foi realizada com a técnica de fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (WDXRF), utilizando o método de Regressão Linear.

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

Um perfil inorgânico quantitativo foi determinado para cada espécie, a partir de amostras em forma “in natura” e cápsulas de diferentes procedências.

Os perfis inorgânicos contribuem na ratificação das espécies, na avaliação da qualidade do produto identificando rapidamente as anormalidades dentro de um número de amostragem pequeno, demonstrando que o perfil inorgânico é um recurso valioso a ser utilizado num sistema de vigilância sanitária.

1. INTRODUÇÃO

O comércio de plantas medicinais e seus derivados têm crescido a uma taxa de 15% ao ano em todo o mundo. O Brasil possui a maior biodiversidade do planeta [1], estima-se que somente 20% das espécies nativas são conhecidas e muitas outras espécies provenientes de outras regiões do planeta adaptaram-se ao clima local. Estas plantas têm sido utilizadas tanto no desenvolvimento de novas drogas comerciais como também são usadas por uma boa parte da população que tem nas plantas medicinais uma alternativa mais barata para o tratamento de diversas enfermidades.

Estudos científicos têm identificado importante relação entre os compostos fármacos-ativos e elementos químicos nas ações terapêuticas [2,3]. Ainda, os elementos químicos exercem uma grande variedade de funções bioquímicas em todos os organismos vivos.

O conhecimento do teor dos elementos químicos nas plantas medicinais é importante na avaliação da sua qualidade, principalmente em relação à contaminação metálica e nos estudos de ratificação das espécies.

Desde 1995 o Ministério da Saúde tenta estabelecer guias, baseadas nas recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS), que balizem a qualidade, segurança e eficácia das plantas medicinais comercializadas no mercado interno [4]. No entanto, a vigência e a aplicação das normativas têm apresentado algumas dificuldades e a fiscalização tem sido praticamente inexistente [5].

A identificação e composição terapêutica das plantas medicinais são de fundamental importância para estabelecer normas compatíveis entre a utilização e a conservação das espécies, considerando a importância ambiental, econômica e de saúde pública.

2. PARTE EXPERIMENTAL

A coleta das espécies *Stryphnodendron barbatiman* (Barbatimão), *Ginkgo folium* (Ginkgo biloba), *Echinodorus macrophyllus* (Chapéu de couro), *Valeriana officinalis* (Valeriana), *Cordia salicifolia* (Porangaba) foi realizada junto a estabelecimentos comerciais especializados. Foram amostrados para cada espécie 3 procedências diferentes na forma “in natura” e 3 outras procedências na forma de cápsulas.

As amostras “in natura” foram trituradas utilizando-se um “mixer”, modelo Spex Freezer/Mill a temperatura de N₂ e subsequentemente homogeneizadas num almofariz de ágata. As amostras em forma de cápsulas tiveram seu conteúdo retirado e homogeneizado conforme o procedimento anterior.

Todas as amostras foram preparadas na forma de pastilha prensada de dupla camada utilizando como material aglutinante álcool polivinílico, 10% solução aquosa (4-5 gotas/g da amostra).

Foram aplicados testes estatísticos para validação do método, a partir do CRM NIST 1547-“Peach-Leaves”, foram preparadas 6 pastilhas paralelas. Para cada elemento foram realizadas 7 medidas das intensidades fluorescentes por pastilha, totalizando 42 medidas para cada radiação característica [6].

Foi utilizado o espectrômetro de fluorescência de raios X, modelo RIX 3000 da Rigaku Co. estabelecendo para cada linha de emissão característica dos elementos os parâmetros de medidas ideais como: excitação (kV, mA), colimador, filtro, atenuador, cristal analisador, detector, tempo fixo de contagem e outros.

A partir das curvas de calibração individuais [6] foram determinadas as concentrações dos elementos Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb e Sr nas espécies coletadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a eliminação de valores dispersos (outliers) foi aplicado o teste de rejeição do Critério de Chauvenet. Em seguida, foi aplicado o critério de Cochran, que se baseia na lei de distribuição da relação entre o valor da maior variância encontrada com a soma de todas as variâncias, como pré-requisito para análise das variâncias (ANOVA). Os valores certificados e determinados, erro relativo e coeficiente de variação encontram-se na TABELA 1. A avaliação da exatidão foi obtida calculando-se os valores de Z-score, cujos valores encontram-se relacionados na FIGURA 1, a partir da variação do desvio que pondera o desvio padrão da amostra certificada e o desvio padrão do laboratório.

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

TABELA 1 - Tabela 9 - Valores certificados e determinados do CRM NIST 1547- "Peach Leaves". Método de Regressão Linear, WDXRF

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

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

* CRM utilizado: NIES 9 Sargasso

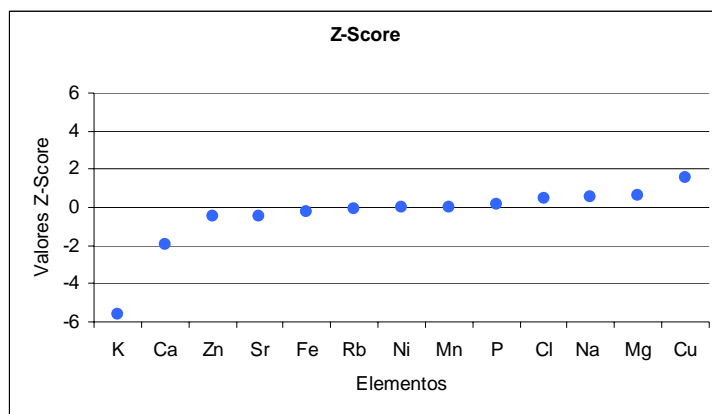


Figura 1 - Valores Z-score para CRM NIST 1547-“Peach Leaves”.
Método de Regressão Linear, WDXRF.

As variações elementares podem ser atribuídas a duas principais fontes de incerteza: número discreto de amostragem (seis procedências) e heterogeneidade das amostras, uma vez que são constituídas de caules, folhas e flores. Associada a heterogeneidade ainda deve ser considerado, em menor grau, o aspecto genótipo das espécies. Cada espécie possui uma capacidade de absorver certos elementos químicos de forma diferenciada, cujo fator de absorção depende principalmente da composição do solo, umidade e exposição ao sol. Portanto, variação elementar pode ser observada para a mesma espécie, dependendo das condições climáticas do cultivo.

Os resultados (FIGURA 2) mostram que o Mg, S, Cl, K e Ca são elementos maiores para todas as espécies estudadas. O P apresenta-se como elemento constituinte para as espécies *Cordia salicifolia*, *Ginkgo folium* e *Echinodorus macrophyllus* exceto para as espécies *Valeriana officinalis* e *Stryphnodendron barbatiman*. O Fe apresentou-se como elemento constituinte ($2881 \pm 1723 \mu\text{g g}^{-1}$) para a espécie *Ginkgo folium* e para todas as demais espécies como elemento traço cujo conteúdo variou entre 136 a $690 \mu\text{g g}^{-1}$. O Mn apresentou-se como elemento constituinte, somente, para a espécie *Cordia salicifolia* ($921 \pm 337 \mu\text{g g}^{-1}$) e as demais espécies apresentaram um conteúdo entre 10 a $450 \mu\text{g g}^{-1}$. Os elementos Ni e Cu encontram-se presentes como elementos traço (1 a $15 \mu\text{g g}^{-1}$). Todas as espécies apresentaram o conteúdo de Zn $< 1 \mu\text{g g}^{-1}$. Os elementos Rb e Sr também se apresentaram como elementos traço cuja concentração variou entre 10 a $150 \mu\text{g g}^{-1}$ nas espécies estudadas.

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

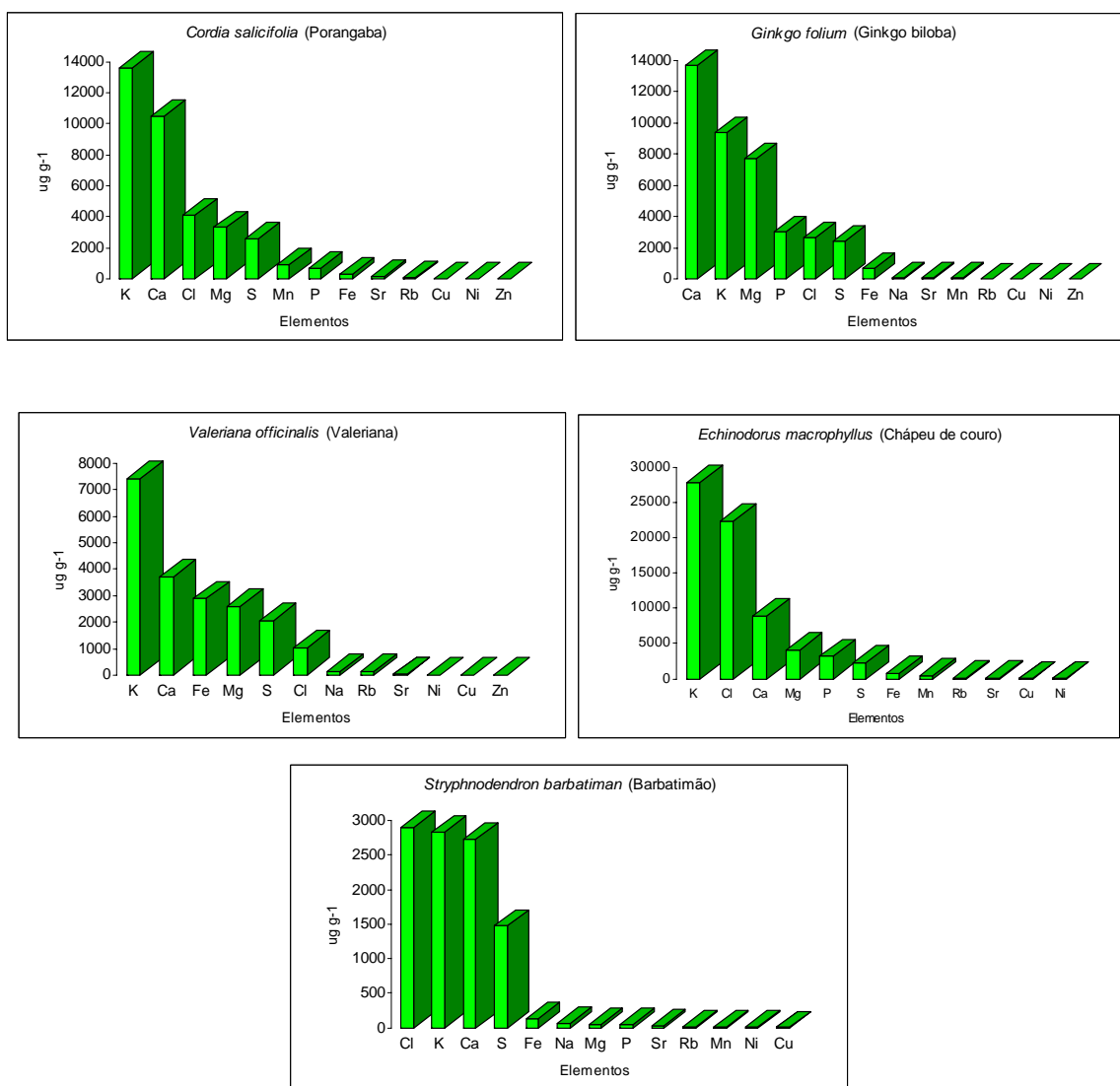


FIGURA 2. Perfil inorgânico quantitativo das plantas medicinais

3. CONCLUSÕES

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

REFERÊNCIAS

1. Giuliatti, A.; Forero, E. "Diversidade taxonômica e padrões de distribuição das angiospermas brasileiras." *Acta Botanica Brasilica*, v. 4, p. 3-10, 1990
2. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância Sanitária, *Informativo SBF*, mai/jun 1995
3. M. G. Brandão, N. Freire, C. D. V. Soares, "Vigilância de fitoterápicos em Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila", *Cadernos de Saúde Pública*, vol 11 (3), pp. 613-616, 2000.
4. S. M. Vaz, M. Saiki, M. B. A. Vasconcellos, J. A. A. Sertié, "Neutron Activation Analysis of Medicinal Plant Extracts", *Journal of Radioanalytical Nuclear Chemistry*, vol 195, pp. 185-193, 1995.
5. J.B. Calixto, "Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines", *Brazilian J. of Med. Biol. Res.*, vol 33, pp. 179-189, 2000.
6. Ferreira, M. O. M.; Sato, I. M.; Salvador, V. L. R. "Validação da metodologia analítica na determinação de componentes inorgânicos em plantas medicinais *Valeriana officinalis*, *Ginkgo folium* e *Echunodorus macrophyllus*." *Metrologia-2003 – Metrologia para a vida*. Setembro, 2003, Recife, Brasil, Anais do Metrochem 2003, 01-05