

UNIVERSIDADE DE SOROCABA
PRÓ REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA, EXTENSÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Thais Hora Paulino Estanagel

**ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA ELEMENTAR DE EXTRATOS SECOS DE
PLANTAS MEDICINAIS E PLANTAS MEDICINAIS MOÍDAS PELA TÉCNICA DE
FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X.**

Sorocaba/SP

2019

Thais Hora Paulino Estanagel

**ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA ELEMENTAR DE EXTRATOS SECOS DE
PLANTAS MEDICINAIS E PLANTAS MEDICINAIS MOÍDAS PELA TÉCNICA DE
FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X.**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. José Martins de Oliveira Junior

Sorocaba/SP

2019

Ficha Catalográfica

Estanagel, Thais Hora Paulino

E82e Estudo da composição química elementar de extratos secos de plantas medicinais e plantas medicinais moídas pela técnica de fluorescência de raios-x / Thais Hora Paulino Estanagel. – 2019.

95 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. José Martins de Oliveira Junior

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –

Thais Hora Paulino Estanagel

**ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA ELEMENTAR DE EXTRATOS SECOS DE
PLANTAS MEDICINAIS E PLANTAS MEDICINAIS MOÍDAS PELA TÉCNICA DE
FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X.**

Dissertação apresentada como
requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre no Programa de Pós-
Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade de
Sorocaba.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. José Martins de Oliveira Junior
Universidade de Sorocaba

Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud
Universidade de Sorocaba

Prof. Dr. Waldemar Bonventi Junior
Universidade de Sorocaba

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por me permitir iniciar a realização de mais um sonho e sentir essa enorme gratidão.

A minha família, que é minha base e me acompanhou por essa trajetória.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Uniso por compartilhar o conhecimento e por sempre estarem tão receptivos.

E em especial ao Professor Jose Martins, por todos os ensinamentos e acima de tudo, pela oportunidade.

RESUMO

Extratos de plantas medicinais são usados em diferentes tipos de produtos em diferentes áreas, como a farmacêutica, cosmética, alimentícia e veterinária. O metabolismo do corpo humano é regulado pela presença ou ausência de certos elementos químicos, alguns destes são responsáveis por funções celulares vitais para o ser humano como o potássio, o ferro e o cálcio. Outros elementos como metais pesados (As, Hg, Cd e Pb) mesmo em concentrações muito baixas são altamente tóxicos. Portanto, há necessidade de se investigar a composição química de plantas e extratos medicinais, pois a presença em concentrações excessivas de alguns elementos, assim como a deficiência de outros, pode levar a uma série de distúrbios metabólicos. O metabolismo das plantas, o tipo de solo e os métodos de obtenção dos extratos podem influenciar na composição fitoquímica dos extratos. Com isso em mente, é necessário investigar a composição dos elementos químicos desses extratos com a finalidade de detectar a presença de contaminantes nocivos à saúde ou acima dos níveis estabelecidos pelos órgãos reguladores. Principalmente investigar a contaminação por metais pesados como As, Pb, Hg e Cd. O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química de plantas moídas e extratos secos de plantas medicinais utilizando a técnica de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia (ED-XRF). A metodologia utilizada está baseada na seleção de 20 amostras, que foram prensadas com uma força de equivalente a 15 toneladas usando máquina de compressão para formarem pastilhas. Pastilhas com concentrações conhecidas dos elementos químicos de interesse foram usadas para calibrar o sistema de ED-XRF. As análises qualitativas e quantitativas dos extratos secos e plantas medicinais moídas foram feitas no Laboratório de Física Nuclear Aplicada da Universidade de Sorocaba – Uniso e indicaram a presença dos seguintes elementos: As, Cr, Cu, Fe, Ni, Zn, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Mn, Co, Rb, Zr, Cd, Sn, Ba, Hg, Pb, Bi, Mo e Pt. O que confirma a nossa hipótese sobre a necessidade de avaliar estes e outros produtos para consumo humano.

Palavras-chave: Fluorescência de Raios-X. EDXRF. Plantas Mediciniais. Extratos Mediciniais. Metais Pesados.

ABSTRACT

Medicinal plant extracts are used in different types of products in different areas such as pharmaceutical, cosmetic, food and veterinary. The metabolism of the human body is regulated by the presence or absence of certain chemical elements, some of these are responsible for vital cellular functions for humans such as potassium, iron and calcium. Other elements such as heavy metals (As, Hg, Cd and Pb) even at very low concentrations are highly toxic. Therefore, it is necessary to investigate the chemical composition of plants and medicinal extracts, since the presence in excessive concentrations of some elements, as well as the deficiency of others, can lead to a series of metabolic disorders. Plant metabolism, soil type and extraction methods can influence the phytochemical composition of the extracts. With this in mind, it is necessary to investigate the composition of the chemical elements of these extracts in order to detect the presence of contaminants harmful to health or above the levels established by regulatory agencies. The aim of this work was to evaluate the chemical composition of ground plants and dry extracts of medicinal plants using the Energy Dispersion X-Ray Fluorescence technique (ED- XRF). The methodology used is based on the selection of 20 samples, which were pressed with a force equivalent to 15 tons using a compression machine to form pellets. Tablets with known concentrations of the chemical elements of interest were used to calibrate the ED-XRF system. The qualitative and quantitative analyzes of dry extracts and ground medicinal plants were done at the Laboratory of Applied Nuclear Physics of the University of Sorocaba - Uniso and indicated the presence of the following elements: As, Cr, Cu, Fe, Ni, Zn, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Mn, Co, Rb, Zr, Cd, Sn, Ba, Hg, Pb, Bi, Mo and Pt. Which confirms our hypothesis on the need to evaluate these and others products for human consumption

Keywords: X-Ray Fluorescence, EDXRF, Medicinal Plants, Medicinal Extracts, Heavy Metals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1.1	Incidência do feixe de radiação sobre o elétron.	20
Figura 1.1.2	Ilustração dos saltos quânticos realizados pelos elétrons	21
Figura 1.1.3	Espectro dos raios-X característicos. No eixo das abscissas temos a energia dos raios-X característicos e no eixo das ordenadas o número de contagens.	21
Figura 1.1.4	Tabela Periódica com os valores das energias dos raios-X característicos.	23
Figura 1.2.1.1	Fluxograma de processo de fabricação de planta moída pelo processo de moagem.	25
Figura 1.2.2.1	Concentrações dos elementos químicos presentes nos adjuvantes.	26
Figura 1.2.2.2	Fluxograma de processo de fabricação de Extrato Seco pelo processo de secagem por atomização em “ <i>Spray Dryer</i> ”	27
Figura 4.2.1	Fotografia da montagem experimental, mostrando a fonte de raios-X, o detector de silício drift (SDD) e porta amostra.	32
Figura 4.2.3.1.1	Distribuição dos objetos a-j no espaço de características xy	36
Figura 4.2.3.1.2	Dendrograma do agrupamento hierárquico conforme a medida da distância euclidiana.	37
Figura 5.1	Curva de calibração para o elemento químico Mercúrio. A Reta de calibração $C = 2.84 \text{ Cont} - 9.16$ possui $R^2 = 0.9974$.	40
Figura 5.2	Curva de calibração para o elemento químico Arsênio. A Reta de calibração $C = 1.18 \text{ Cont} - 30.74$ possui $R^2 = 0.9997$.	40
Figura 5.3	Curva de calibração para o elemento químico Chumbo. A Reta de calibração $C = 3.35 \text{ Cont} - 7.89$ possui $R^2 = 0.9945$.	41
Figura 5.4	Curva de calibração para o elemento químico Cádmiu. A Reta de calibração $C = 67.88 \text{ Cont} - 356.62$ possui $R^2 = 0.9904$.	41
Figura 5.1.1.1	Concentração de Arsênio nas amostras. A Linha vermelha representa o LMP estabelecido pelas Farmacopeias Brasileira e Americana para o elemento Arsênio.	49
Figura 5.1.2.1	Concentração de Cromo nas amostras. A Linha amarela representa o LMP estabelecido pela Farmacopeia Brasileira e Americana para o elemento Cromo.	50
Figura 5.1.3.1	Concentração de Cobre nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Cobre.	51
Figura 5.1.4.1	Concentração de Ferro nas amostras.	52

Figura 5.1.5.1	Concentração de Níquel nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Níquel.	53
Figura 5.1.6.1	Concentração de Zinco nas amostras.	54
Figura 5.1.7.1	Concentração de Silício nas amostras	56
Figura 5.1.8.1	Concentração de Fósforo nas amostras.	57
Figura 5.1.9.1	Concentração de Enxofre nas amostras.	58
Figura 5.1.10.1	Concentração de Cloro nas amostras.	59
Figura 5.1.11.1	Concentração de Potássio nas amostras.	60
Figura 5.1.12.1	Concentração de Cálcio nas amostras.	61
Figura 5.1.13.1	Concentração de Titânio nas amostras	62
Figura 5.1.14.1	Concentração de Vanádio nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Vanádio.	63
Figura 5.1.15.1	Concentração de Manganês nas amostras. A linha amarela representa o LMP estabelecido pela Farmacopeia Brasileira para o elemento Manganês.	64
Figura 5.1.16.1	Concentração de Cobalto nas amostras. A linha vermelha representa o LMP estabelecido pela Farmacopeia Americana para o elemento Cobalto.	65
Figura 5.1.17.1	Concentração de Rubídio nas amostras.	66
Figura 5.1.18.1	Concentração de Zircônio nas amostras.	67
Figura 5.1.19.1	Concentração de Cádmio nas amostras. A linha vermelha representa os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana para o elemento Cádmio.	69
Figura 5.1.20.1	Concentração de Estanho nas amostras.	70
Figura 5.1.21.1	Concentração de Bário nas amostras.	71
Figura 5.1.22.1	Concentração de Mercúrio nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Mercúrio.	73
Figura 5.1.23.1	Concentração de Chumbo nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Chumbo.	75
Figura 5.1.24.1	Concentração de Bismuto nas amostras.	76

Figura 5.1.25.1	Concentração de Molibdênio nas amostras.	77
Figura 5.1.26.1	Concentração de Platina nas amostras. A linha vermelha representa os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana para o elemento Platina.	78
Figura 5.2.1.1	Dendrograma mostrando a correlação entre os elementos encontrados nas amostras.	79
Figura 5.2.1.2	Altas correlações entre os elementos encontrados nas amostras.	79
Figura 5.2.1.3	Matriz de escalas em cores das correlações entre as plantas. Nas bordas, dendrogramas representando os agrupamentos formados por similaridade.	81
Figura 5.2.1.4	Scores nas duas primeiras componentes.	83
Figura 5.2.1.5	Loadings das variáveis (elementos químicos) em relação às componentes principais.	84
Figura 5.2.1.6	Detalhamento dos outros elementos. Em destaque, os metais pesados.	84
Figura 5.4.1	Concentração média dos diferentes elementos encontrados nos extratos secos e nas plantas medicinais moídas.	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1.1	Nome científico, Nome Popular, Parte Utilizada, Indicação Terapêutica e Produto Comercializado no mercado nacional de cada amostra analisada pela técnica de ED-XRF.	31
Tabela 5.1.1(a)	Elementos químicos identificados e quantificados ($\mu\text{g/g} \pm \text{DP}$) nos extratos secos de plantas medicinais (amostra 1 a 7).	43
Tabela 5.1.1(b)	Elementos químicos identificados e quantificados ($\mu\text{g/g} \pm \text{DP}$) nos extratos secos de plantas medicinais (amostra 8 a 14).	44
Tabela 5.1.2	Elementos químicos identificados e quantificados ($\mu\text{g/g} \pm \text{DP}$) nas plantas medicinais moídas.	45
Tabela 5.1.3	Elementos químicos identificados e quantificados ($\mu\text{g/g} \pm \text{DP}$) nos adjuvantes/excipientes utilizados na produção dos extratos secos.	46
Tabela 5.1.4	LMP pela Farmacopeia Brasileira 5ª Edição quando em uso oral.	47
Tabela 5.1.5	LMP pela United States Pharmacopoeia (USP 40) quando em uso oral.	47
Tabela 5.2.2.1	Importância das componentes principais obtidas.	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica
Al	Alumínio
Ar	Argônio
As	Arsênio
Ba	Bário
Bi	Bismuto
Br	Bromo
C	Carbono
Ca	Cálcio
Cd	Cádmio
Cl	Cloro
Co	Cobalto
CPs	Componentes principais
Cr	Cromo
Cu	Cobre
ED-XDRF	Fluorescência de Raios-X por dispersão de energia.
Fe	Ferro
H	Hidrogênio
Hg	Mercúrio
ICP-MS	Espectroscopia de massa por plasma indutivamente acoplado
Ir	Írídio
K	Potássio
LMP	Limite Máximo Permitido
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
Mo	Molibdênio
N	Nitrogênio
Na	Sódio
NAA	Análise por ativação neutrônica
Ne	Neon
Ni	Níquel
O	Oxigênio

P	Fósforo
Pb	Chumbo
PCA	Principal Component Analysis
Pd	Paládio
ppm	Partes por Milhão
Pt	Platina
Rb	Rubídio
Rh	Ródio
Ru	Rutênio
S	Enxofre
Si	Silício
Sn	Estanho
Sr	Estrôncio
Ti	Titânio
TXRF	Espectrometria de fluorescência de raios-X por reflexão total
U	Urânio
V	Vanádio
WD-XRF	Fluorescência de Raios-X por comprimento de onda.
XRF	Fluorescência de Raios-X
Z	Número Atômico
Zn	Zinco
Zr	Zircônio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1. Fluorescência de Raios-X	18
1.2. Matéria Prima Vegetal	24
1.2.1. Plantas Moídas	24
1.2.2. Extratos Secos.....	25
2. HIPÓTESE	28
3. OBJETIVOS	30
3.1. Objetivo Geral	30
3.2. Objetivo Específico	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1. Material	31
4.2. Métodos	32
4.2.1. Especificações do Equipamento de ED-XRF	33
4.2.2. Calibração do sistema de Fluorescência	33
4.2.3. Análise Estatística Multivariada dos Dados	34
4.2.3.1. Análise por Agrupamentos (clustering).....	35
4.2.3.2. Análise por Componentes Principais.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
5.1. Resultado Geral	42
5.1.1. Arsênio	48
5.1.2. Cromo.....	49
5.1.3. Cobre.....	50
5.1.4. Ferro	51
5.1.5. Níquel	52
5.1.6. Zinco.....	54
5.1.7. Silício	55
5.1.8. Fósforo	56
5.1.9. Enxofre	57
5.1.10. Cloro	58
5.1.11. Potássio.....	59
5.1.12. Cálcio.....	60
5.1.13. Titânio.....	61
5.1.14. Vanádio	62

5.1.15. Manganês.....	64
5.1.16. Cobalto	65
5.1.17. Rubídio	66
5.1.18. Zircônio.....	67
5.1.19. Cádmiio	68
5.1.20. Estanho	69
5.1.21. Bário	70
5.1.22. Mercúrio.....	71
5.1.23. Chumbo	73
5.1.24. Bismuto.....	75
5.1.25. Molibdênio	76
5.1.26. Platina.....	77
5.2. Resultado das Análises Multivariadas dos Dados	78
5.2.1. Resultado das Análises por Agrupamento.....	78
5.2.2. Resultados das Análises de Componentes Principais.....	82
5.3. Comparação Entre Técnicas	85
5.4. Correlação das plantas medicinais moídas e os extratos secos das plantas medicinais no processo produtivo.....	86
6. CONCLUSÃO.....	87
REFERÊNCIAS.....	89
ANEXO A – APRESENTAÇÃO DO TRABALHO NO 4ºCONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.....	94
ANEXO B – APRESENTAÇÃO DO TRABALHO NA 41ºENCONTRO BRASILEIRO DE FÍSICA NUCLEAR.....	95

1. INTRODUÇÃO

Desde o início da história da medicina até os dias atuais, a fitoterapia representa uma parte regular do tratamento médico e da manutenção da saúde (ABDEL-TAWAB, 2017). Extratos de plantas medicinais assim como as plantas medicinais trituradas, moídas ou na forma de pós são usados em diferentes áreas, como farmacêutica, cosmética e alimentícia, sendo empregadas em diferentes aplicações e formas farmacêuticas. Fatores adicionais que promovem o consumo de produtos de origem vegetal estão baseados na crença de que os botânicos são naturais e “natural é bom” e, conseqüentemente, seguro (ABDEL-TAWAB, 2017). No entanto, são poucos os estudos que indicam a composição química das plantas e extratos e se os mesmos contêm substâncias prejudiciais à saúde humana, uma vez que são amplamente utilizadas em alimentos, bebidas, preparações medicinais (MARGUÍ; QUERALT; HIDALGO, 2009) e algumas substâncias como os metais pesados, mesmo em pequenas quantidades, podem produzir sérios danos a saúde.

O uso de plantas medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das formas mais antigas de prática da humanidade (SANTOS et al., 2017). O equívoco comum de que os botânicos são inofensivos e desprovidos de efeitos adversos frequentemente leva ao uso indevido e ingestão irrestrita, resultando em aumento da incidência de efeitos colaterais e interações medicamentosas (ABDEL-TAWAB, 2017).

Fitomedicamentos são classificados como suplementos nutricionais à base de ervas medicinais e são uma fonte importante de nutrientes (vitaminas, minerais e aminoácidos) (SANTOS et al., 2017), por isso, justifica-se os estudos científicos envolvendo plantas medicinais, a fim de verificar sua composição química e analisar suas propriedades medicinais (EKINCI et al., 2004).

Padrões de qualidade para medicamentos à base de plantas desenvolveram-se significativamente nas últimas décadas (LÄNGER et al., 2018), uma vez que elementos com propriedades tóxicas são prejudiciais para o corpo humano, mesmo em concentrações muito baixas (AL-OMARI, 2011). Em pequenas quantidades eles são necessários para manter a boa saúde, porém a presença além de certos limiares tende a ser prejudicial, causando intoxicação aguda ou crônica (JAISHANKAR et al., 2014; NKANSAH et al., 2016), ou seja, em pequenas

quantidades alguns são necessários para manter a boa saúde, mas em maior quantidade podem se tornar tóxicos ou perigosos.

A toxicidade de metais pesados pode danificar o funcionamento do cérebro, pulmões, rim, fígado, composição do sangue e outros órgãos importantes (JAISHANKAR et al., 2014).

O conhecimento da composição elementar de fitoterápicos é muito importante na determinação de sua toxicidade e por consequência, na segurança para o uso (NKANSAH et al., 2016; OBIJUNWA; ADEBAJO; OMOBUWAJO, 2002). Sendo assim, a concentração de alguns elementos é um dos critérios que tornam as plantas naturais admissíveis para consumo humano (MARGUÍ; QUERALT; HIDALGO, 2009). Os teores de metais são importantes nos fitoterápicos, devido às suas propriedades toxicológicas, bem como do ponto de vista nutricional (SANTOS et al., 2017). Este cenário tem contribuído na busca de ferramentas analíticas, para a determinação da composição química elementar de produtos de origem vegetal (MARGUÍ; QUERALT; HIDALGO, 2009).

A exposição a metais pesados em longo prazo pode levar a processos degenerativos que causam doenças como esclerose múltipla, doença de Parkinson, doença de Alzheimer e distrofia muscular (JAISHANKAR et al., 2014), indicando novamente a necessidade de se investigar a composição química das plantas e extratos medicinais, a fim de se avaliar com mais exatidão, a presença de elementos nocivos à saúde, mesmo que em baixas concentrações ou a ausência de elementos essenciais, para o bom funcionamento do metabolismo dos seres vivos. Somente análises confiáveis ajudarão esclarecer e definir o tratamento mais eficaz e o nível tóxico para um determinado ser vivo (EKINCI et al., 2004).

A origem das plantas e os métodos de obtenção dos extratos podem influenciar as composições químicas de extratos vegetais. Com isso em mente, é necessário investigar a composição química desses extratos como forma de se evitar a presença de elementos contaminantes nocivos à saúde, mesmo que em baixas concentrações, acima dos níveis estabelecidos pelos órgãos reguladores, principalmente a contaminação por metais pesados como As, Pb, Hg e Cd. A análise elementar qualitativa e quantitativa feita neste trabalho envolveu os seguintes elementos químicos: As, Cr, Cu, Fe, Ni, Zn, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Mn, Co, Rb, Zr, Cd, Sn, Ba, Hg, Pb, Bi, Mo e Pt.

A técnica de fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF) tem sido usada no estudo da composição química elementar de plantas e/ou extratos de plantas medicinais em diversas partes do mundo.

Obijunwa et al., 2002, utilizaram ED-XRF para a determinação da composição química elementar de elementos traços de cerca de vinte plantas medicinais nigerianas.

Ivanova et al.,(1998), utilizaram a técnica de fluorescência de raios-X (ED-XRF), para análise de solo e de plantas medicinais da Bulgária. As amostras foram excitadas através dos raios gama de energias 17 keV e 60 keV emitidos por uma fonte radioativa de Amerício-241. Foram determinadas as concentrações elementares dos elementos químicos Co, Cr, Fe, Mn, Ni e Pb nas plantas e As, Ba, Fe, Pb, Sr, Rb e Zr nos solos.

Chuparina e Gunicheva, (2003), determinaram uma série de elementos químicos (Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Mn, Fe, S, Sr e Cl) em plantas na forma de pós, usando a técnica de fluorescência de raios-X. O trabalho discute os possíveis efeitos da matriz na determinação direta dos elementos químicos e possíveis formas de correção dos valores obtidos para as concentrações elementares. Foi demonstrado que os principais efeitos da matriz são a absorção e a dispersão dos raios-X característicos provenientes da fluorescência dos elementos que compõem a amostras.

Marguí et al., (2005), através da técnica de fluorescência de raios-X, determinaram o conteúdo de macro e microelementos em produtos a granel de cinco plantas comumente usadas na Espanha.

Marguí et al., (2009), ressaltam a importância dessa técnica para a dosagem de metais nas matrizes vegetais em áreas ambientais e industriais. Uma excelente forma para avaliar riscos de contaminação ou simplesmente processos biológicos da planta, além de permitir a análise para uma ampla faixa de elementos químicos, apresenta alto rendimento, baixo custo por determinação, e ainda se destaca na quantificação dos elementos P, S, Cl e Br, que são elementos difíceis de se determinar por outros métodos analíticos (POLES JUNIOR, 2016).

Al-Omari, (2011), analisou a concentração elementar de dez drogas, adquiridas no mercado da Jordânia, as quais foram analisadas por meio da técnica de fluorescência de raios X por dispersão em energia (ED-XRF). Foram analisadas as concentrações elementares de 19 elementos químicos, a saber: Si, P, S, Cl, K,

Ca, Ti, Cr, Ni, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, As, Rb, Sr, Zr e Hg. Os elementos K (7957-149827 mg/kg), Ca (4000-1597 mg/kg), Fe (68-6100 mg/kg) e Sr (9-512 mg/kg). Estavam presentes em todas as amostras. Em algumas espécies, o elemento tóxico Hg foi encontrado além dos valores permitidos. Todas as amostras que tinham Ca também apresentavam o elemento Fe, ou seja, foi encontrada uma correlação positiva entre esses dois elementos.

Mc Gladdery et al., (2018), usaram a técnica de ED-XRF para analisar a composição química elementar de plantas adquiridas no mercado Romeno. A técnica foi empregada na análise de 228 amostras de material orgânico das plantas, envolvendo palha, folhas, cascas, etc. As amostras foram analisadas em três condições diferentes, após a colheita em campo, após secagem em forno na temperatura de 70 °C e na forma de pós, após passar em peneira de 2mm. Foram obtidos as concentrações elementares de vários elementos químicos, dentre eles Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mn, Pb, Sr, Zn com concentrações variando de alguns ppm (partes por milhão) até milhares de ppm.

1.1. Fluorescência de Raios-X

A Fluorescência de Raios-X (XRF) (“Theory of XRF Copyright 2003 by Panalytical BV, The Netherlands”, 2003) é um tipo de análise multielementar que consiste na leitura espectrofotométrica dos raios-X característicos provenientes da excitação dos átomos de uma amostra. Esta técnica qualitativa e quantitativa permite identificar e estabelecer a proporção dos elementos de maneira não destrutiva, viabilizando a empregabilidade nas mais diversas áreas (ESTEVAM, 2005; PARREIRA, 2006).

Até 1966 a XRF era realizada unicamente por espectrômetros por dispersão em comprimento de onda (WD-XRF), abreviação de *Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence*, baseados na lei de Bragg, os quais necessitam de um movimento sincronizado e preciso entre o cristal difrator e o detector (JENKINS R. et al, 1981).

Com o desenvolvimento do detector semi condutor de Si (Li), capaz de discriminar raios-X de energias próximas, foi possível o surgimento da fluorescência de raios-X por dispersão de energia (ED-XRF), abreviação de *Energy Dispersive X-*

ray Fluorescence, também conhecida como fluorescência de raios-X não dispersiva¹, com instrumentação menos dispendiosa e emprego mais prático (BERTIN, 1975; ENERGY AGENCY INTERNACIONAL ATOMIC, 1970; KATSANOS, 1980; SIEGBAHN, 1965).

A técnica é não-destrutiva, relativamente sensível que permite a avaliação simultânea, análise qualitativa, semi quantitativa e quantitativa de amostras (MARGUÍ; QUERALT; HIDALGO, 2009).

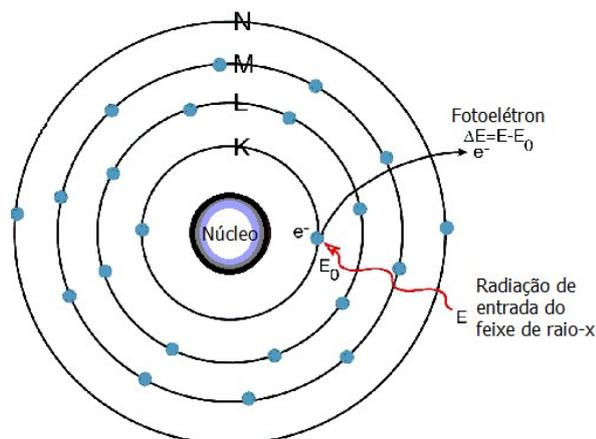
Para que ocorram as transições eletrônicas que originarão os raios-X característicos é necessário excitar os elétrons das camadas mais internas dos átomos, as chamadas camadas K, L, M, pela incidência de um feixe de radiação sobre a amostra analisada (Figura 1.1.1) (PARREIRA, 2006; SÁNCHEZ et al., 2008).

Os elementos orgânicos (H, C, N, O, F, Ne), não produzem raios-X característicos, com energia suficiente para chegar ao detector e produzir um pico no espectro de fluorescência, quando o sistema é montado em ar.

Para sistemas que utilizam detectores de Si-drift, (AMPTEK, 2019) com câmara em vácuo, é possível medir os elementos mais leves, a partir do elemento Boro. Elementos com baixo número atômico (Z) como Al, Si, Cl, Ar, K e Ca, produzem apenas raios-X característicos do tipo K. Os raios-X do tipo L possuem energia muito baixa, e, portanto, não conseguem ser detectados pelo sistema de fluorescência. Elementos com alto Z como Ba, Hg, Pb e U tem a energia de ligação dos elétrons na camada K muito alta e seria necessário alta energias de excitação para remover estes elétrons, não sendo possível com as fontes de raios-X portáteis. Por isso, para estes elementos só conseguimos medir os raios-X característicos do tipo L. E os elementos com Z intermediário como Sr, Cd, Sn e Ba fornecem raios-X característicos tanto da camada K como da camada L.

¹Dispersiva em energia e não em comprimento de onda.

Figura 1.1.1 - Incidência do feixe de radiação sobre o elétron.



Fonte: Adaptado de AMPTEK. (AMPTEK, 2017).

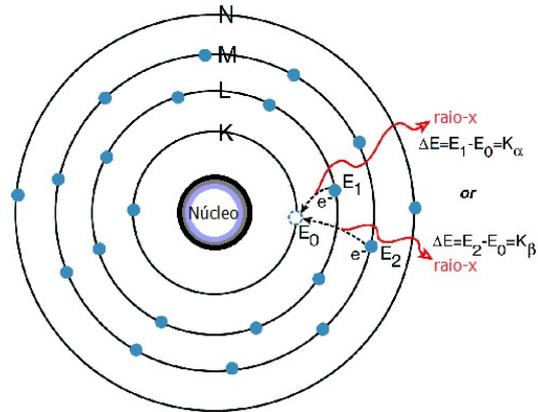
Disponível em: <<http://www.amptek.com/xrf/>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

Após a excitação, a intensidade de uma linha de raios-X característicos emitidos por uma amostra é diretamente proporcional ao número de átomos correspondentes de determinado elemento presente na amostra. A identificação e a quantificação de cada elemento químico pode ser feita usando XRF, uma vez que cada elemento químico tem um único conjunto de níveis de energia atômica e, portanto, emite um único conjunto de raios-X característicos.

Em XRF, o sinal analítico é a intensidade da radiação característica (em contagens por segundo), que é proporcional a fração de massa do elemento que o originou (MARGUÍ; QUERALT; HIDALGO, 2009).

Quando estas transições são provocadas, os elétrons superiores tendem a realizar um salto quântico para preencher o espaço deixado (Figura 1.1.2) pelos elétrons que foram arrancados das camadas inferiores, com isso se emite um fóton (raio-X característico) de energia muito bem definida. O fóton, que é característico de cada elemento químico que o emitiu, é detectado por um detector que possui alta resolução em energia, conseguindo com isso, separar os raios-X característicos dos diferentes elementos emissores, permitindo assim a identificação e quantificação diferentes elementos presentes na amostra. Esta técnica é denominada Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia (ED-XRF) (CLETO, 2013).

Figura 1.1.2 – Ilustração dos saltos quânticos realizados pelos elétrons

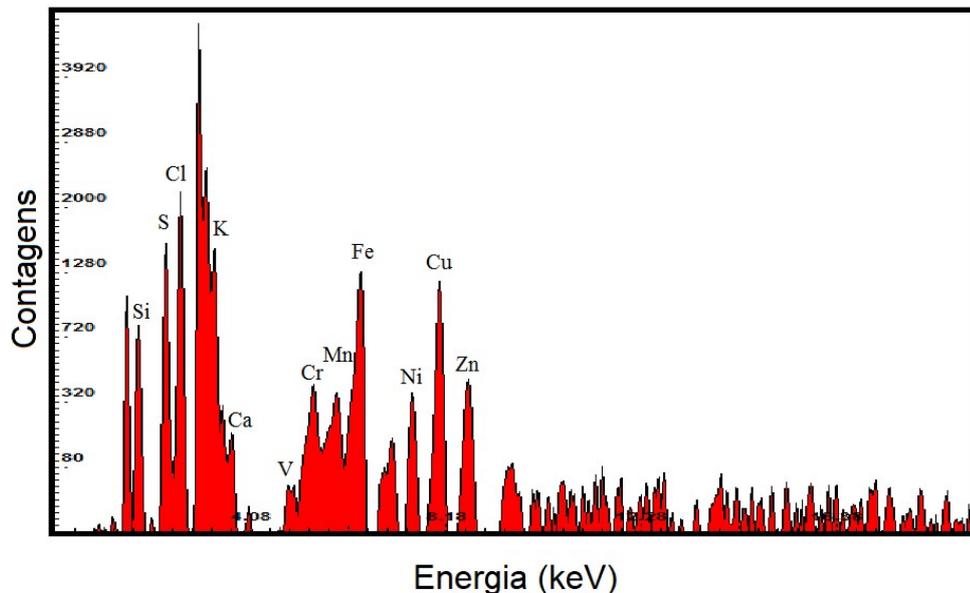


Fonte: Adaptado de AMPTEK. (AMPTEK, 2017).

Disponível em: <<http://www.amptek.com/xrf/>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

Após a excitação da amostra (extrato seco ou planta moída), obtém-se o espectro dos raios-X característicos, conforme exemplificado na Figura 1.1.3 para o extrato seco de *Camellia sinensis L.*, popularmente conhecido como chá verde.

Figura 1.1.3 – Espectro dos raios-X característicos da amostra de extrato seco de *Camellia sinensis L.* No eixo das abscissas temos a energia dos raios-X característicos e no eixo das ordenadas o número de contagens.



Fonte: Elaboração própria

Para cada conjunto de raios-X característicos, podemos associar um único elemento químico, que uma vez identificado por meio da medida da energia do raio-X característico por ele emitido, podemos calcular sua concentração na amostra, medindo-se a área sob o pico, a qual é proporcional a concentração do elemento na amostra. A Figura 1.1.4 mostra uma tabela periódica, onde para cada elemento químico, na parte superior acima do símbolo do elemento, aparecem as energias dos raios-X característicos para as transições K_{α} e K_{β} e na parte inferior do símbolo do elemento, as energias para as transições L_{α} e L_{β} , quando existirem.

Uma das características vantajosas das técnicas de ED-XRF é a possibilidade de realizar análises diretamente em amostras sólidas (MARGUÍ; QUERALT; HIDALGO, 2009). As amostras utilizadas neste trabalho são sólidas, em formato de pastilhas.

Para análise de amostras vegetais, a fluorescência de raios-X fornece os recursos desejados, incluindo capacidade de análise simultânea multi elementar verdadeira, desde os elementos mais leves até os mais pesados, as medidas podem ser feitas numa ampla faixa de concentrações, desde alguns $\mu\text{g/g}$ até milhares de $\mu\text{g/g}$, resposta linear do sistema de detecção para a quantificação das intensidades até três ordens de grandeza (1 $\mu\text{g/g}$ até 1000 $\mu\text{g/g}$), boa precisão nas determinações das concentrações <10%, preparação mínima das amostras, podendo ser sólidas, líquidas, em pós e até gasosas, baixo custo por determinação e os aparelhos são simples de serem usados, não necessitando de especialista na área para operá-los (MARGUÍ; QUERALT; HIDALGO, 2009).

1.2. Matéria Prima Vegetal

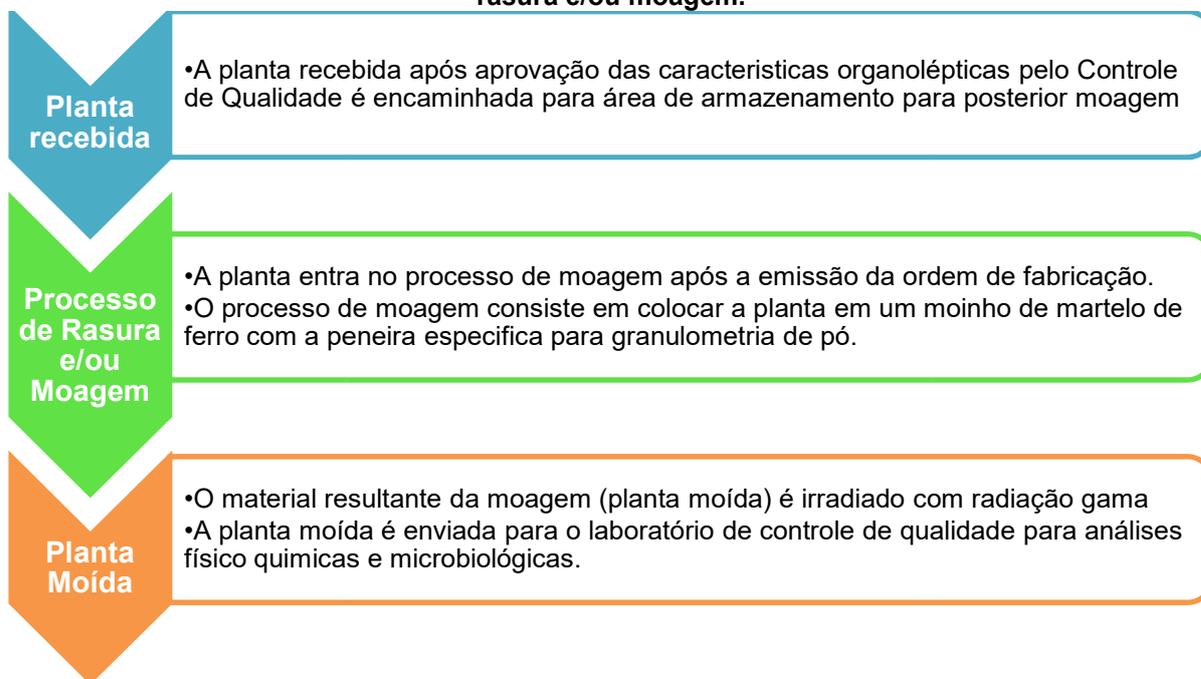
1.2.1. Plantas Moídas

As plantas têm a capacidade de acumular metais pesados em concentrações muito superiores às concentrações de metais presentes no ambiente (NKANSAH et al., 2016). As plantas têm sido usadas para fins medicinais por muitos séculos. Hoje, os medicamentos fitoterápicos estão sendo empregados em todo o mundo em uma variedade de ambientes de cuidados de saúde (EKINCI et al., 2004). Várias partes de plantas são usadas na formulação de medicamentos fitoterápicos. Estes incluem, mas não se limitam a folhas, raízes, cascas, frutos e sementes (NKANSAH et al., 2016).

Para este estudo as plantas moídas foram obtidas pelo método de moagem em moinho de martelo de acordo com o fluxograma de processo de fabricação mostrado na Figura 1.2.1.1.

PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE PLANTAS MOÍDAS

Figura 1.2.1.1 – Fluxograma de processo de fabricação da planta moída pelo processo de rasura e/ou moagem.



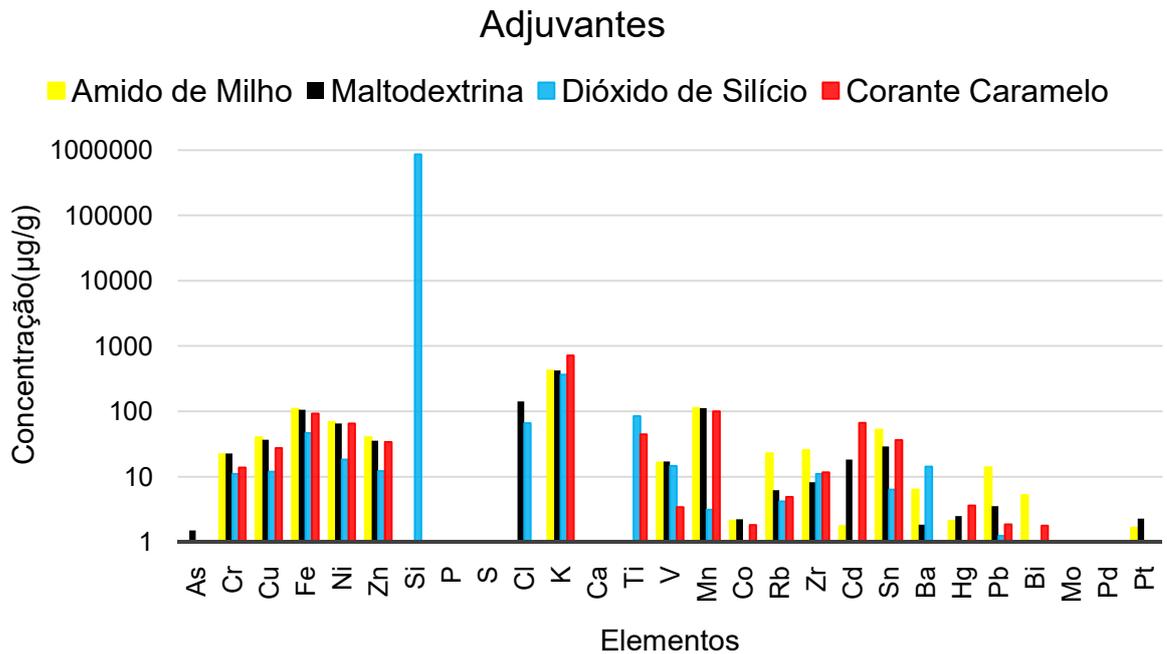
Fonte: Elaboração própria.

1.2.2. Extratos Secos

Os extratos secos se apresentam em forma de pó, obtidos pela evaporação do etanol, água ou outro solvente sob temperatura e pressão controladas, não podendo exceder 5% do seu peso em água (SAAD, 2016). É chamado de extrato líquido o produto a ser evaporado para secagem utilizado como matriz.

Neste concentrado que sob agitação é adicionado, em alguns casos, eventuais adjuvantes e/ou excipientes, por exemplo, para reduzir a umidade do extrato seco, impedindo que ele se acumule nas paredes dos recipientes ou para melhorar sua aparência, cor, entre outras características organolépticas. O elemento silício, por exemplo, é o mais abundante no adjuvante dióxido de silício. A Figura 1.2.2.1 mostra as concentrações dos elementos químicos presentes nos adjuvantes.

Figura 1.2.2.1 – Concentrações dos elementos químicos presentes nos adjuvantes.



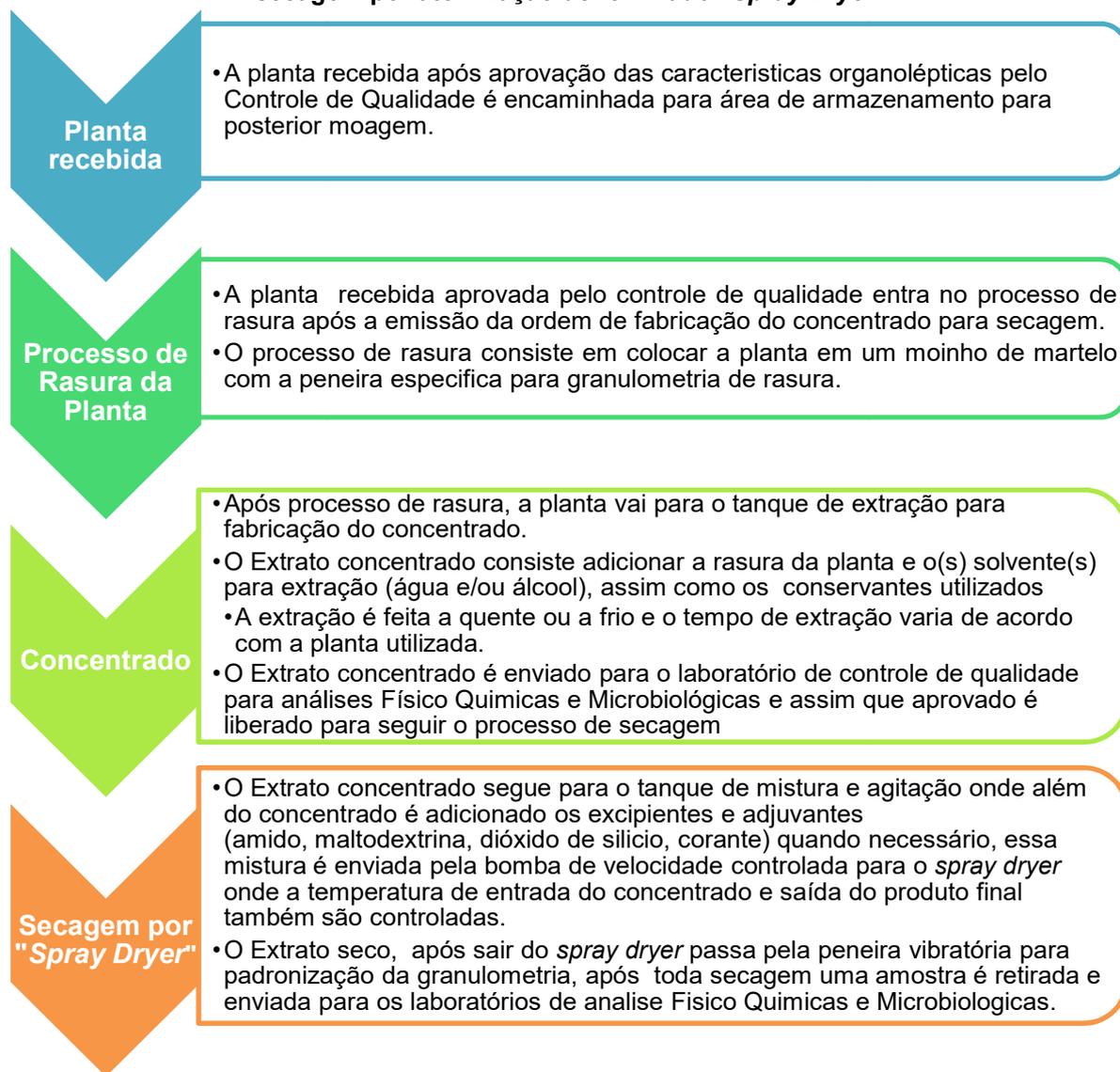
Fonte: Elaboração própria.

Existem diferentes métodos industriais desenvolvidos para obter os extratos secos, como o método conhecido pelo nome em inglês denominado Spray Dryer ou liofilização (SAAD, 2016).

Neste estudo os extratos secos foram obtidos pelo método de fabricação de atomização em spray dryer de acordo com o fluxograma de processo de fabricação mostrado na Figura 1.2.2.2.

PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE EXTRATO SECO

Figura 1.2.2.2 – Fluxograma de processo de fabricação de extrato seco pelo processo de secagem por atomização denominado “*Spray Dryer*”



Fonte: Elaboração própria.

2. HIPÓTESE

Os extratos vegetais para fins terapêuticos são derivados de plantas medicinais. A composição química final de um extrato vegetal pode ser considerada como sendo proveniente da sua composição química natural, levando a população em geral a pensar que o uso dos mesmos, seja para o consumo humano ou animal, jamais poderia trazer algum mal à saúde dos consumidores. Esta classificação é comum, uma vez que estes estão baseados em substâncias naturais imaginadas livres de contaminantes maléficos a saúde. No entanto, os consumidores se esquecem que mesmo os extratos vegetais podem conter substância e/ou impurezas que foram incorporadas durante o processo de crescimento do vegetal, provenientes, por exemplo, da contaminação ambiental do solo, água ou ar ou ainda, contaminantes provenientes do processo de armazenamento, produção, purificação, etc. Sendo assim, o uso prolongado de determinado extrato, no caso da existência de componentes químicos tóxicos, mesmo que em baixas concentrações, podem se acumular no organismo, trazendo sérios riscos para seus consumidores.

Devido a estes fatores, é do interesse da indústria e dos órgãos reguladores que se conheça a composição química elementar dos extratos, para que os mesmos possam ser utilizados com segurança e eficácia.

Diferentes métodos podem ser usados para se determinar a composição química elementar presente num extrato ou numa planta medicinal (C. VANDECASTEELE, 1995).

Exemplos de tais técnicas são:

- a) Espectrometria de fluorescência de raios-X por reflexão total (TXRF) (Z. S. CHEN, 1992);
- b) Espectrometria de absorção atômica (AAS) (HERBER; STOEPLER, 1994);
- c) Análise por ativação neutrônica (NAA) (EJECHI; OJEATA; OYELEKE, 1997)
- d) Espectroscopia de massa por plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (OLABANJI et al., 1996).

Este trabalho se baseia na hipótese de que os extratos secos e as plantas moídas contêm elementos tóxicos prejudiciais à saúde humana e dos animais e, que parte destes contaminantes pode ter sido incorporada durante o processo de produção. Além do mais, queríamos mostrar que a técnica de fluorescência por raios-X, mais especificamente a ED-XRF pode ser usada para a determinação

química elementar de extratos secos de plantas medicinais e de plantas medicinais moídas, uma vez que, a mesma é rápida, precisa e consegue fazer a identificação simultânea de vários elementos químicos, fornecendo concentrações da ordem de partes por milhão (ppm) até milhares de ppm.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Analisar pela técnica de fluorescência de raios-X, mais especificamente a ED-XRF, amostras de extratos vegetais secos e de plantas medicinais moídas, com a finalidade de avaliar qualitativamente e quantitativamente a composição química elementar dos extratos secos e plantas.

3.2. Objetivo Específico

Avaliar como o processo de extração e produção interfere na composição química de plantas moídas e extratos secos medicinais.

Avaliar como a técnica de fluorescência de raios-X, se compara com as metodologias utilizadas atualmente e já certificadas para este tipo de análise.

Identificar pela análise multivariada o agrupamento dos resultados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Quatorze extratos secos de plantas medicinais, bem como seis amostras de plantas medicinais moídas foram usadas neste trabalho. Os extratos secos e as plantas moídas foram adquiridos no mercado brasileiro com laudo de análise e possuem as especificações de uso ou terapêutica, nomes populares e científicos, partes das plantas que foram utilizadas na preparação, conforme descrito na Tabela 4.1.1.

Tabela 4.1.1 – Nome científico, Nome Popular, Parte Utilizada, Indicação Terapêutica e Produto Comercializado no mercado nacional de cada amostra analisada pela técnica de ED-XRF. “continua”

Nome Científico	Nome Popular	Parte Utilizada	Indicação Terapêutica	Tipo de Amostra
<i>Cynarascolymus L.</i>	Alcachofra	Folha	Antidispéptico(BRASIL, 2011). Prevenção de hepatotoxicidade, Estimulante do apetite, laxativo e Diurético (SAAD, 2016).	Extrato Seco Planta Moída
<i>Myrciaria dúbia</i>	CamuCamu	Fruta	Antioxidante(AZEVEDO, 2015).	Extrato Seco
<i>Solanumsessiliflorum</i>	Mana Cubiu	Fruta	Antioxidante (SERENO et al., 2017).	Extrato Seco
<i>Camelliasinensis L.</i>	Chá verde	Folha	Antioxidante, Anti-inflamatório e Estimulante. Propriedades adicionais: Angioprotetora e Anti-radicais livres(SIMOES, 2003).	Extrato Seco Planta Moída
<i>Rhamuspurshiana</i>	Cascara Sagrada	Casca do Caule	Laxante Suave (SIMOES, 2003).	Extrato Seco Planta Moída
<i>Camelliasinensis L.</i>	Matchá	Folha	Antioxidante, Anti-inflamatório e Estimulante. Propriedades adicionais: Angioprotetora e Anti-radicais livres(SIMOES, 2003).	Extrato Seco
<i>Malpighia glabra, L.</i>	Acerola	Fruto	Antioxidante, Tratamento da Anemia(FREITAS et al., 2006).	Extrato Seco
<i>Paulina cupana K.</i>	Guaraná	Semente	Estimulante(SIMOES, 2003).	Extrato Seco Planta Moída
<i>Illexparaguariensis</i>	Mate Verde	Folha	Anti-inflamatório, Antioxidante e Estimulante(SIMOES, 2003).	Extrato Seco
<i>Maytenusilicifolia L.</i>	Espinheira Santa	Folha	Antidispéptico, antiácido e protetor da mucosa gástrica(BRASIL, 2011).	Extrato Seco Planta Moída
<i>Equinacea purpúrea L.</i>	Equinacea	Parte Aérea	Imunoestimulante, Tratamento das infecções agudas do trato respiratório(BARRETT, 2003).	Extrato Seco Planta Moída

Tabela 4.1.1 – Nome científico, Nome Popular, Parte Utilizada, Indicação Terapêutica e Produto Comercializado no mercado nacional de cada amostra analisada pela técnica de ED-XRF. “conclusão”

<i>Melissa officinalis L.</i>	Melissa	Folha	Antiespasmódico, ansiolítico e sedativo leve(BRASIL, 2011).	Extrato Seco
<i>Passiflora incarnata L.</i>	Passiflora	Parte Aérea	Sedativo, Anti-espasmódico e Ansiolítico(SIMOES, 2003).	Extrato Seco
<i>Aesculushippocastanum L.</i>	Castanha da Índia	Semente	Anti-inflamatório(SIMOES, 2003).	Extrato Seco

Fonte: Elaboração própria

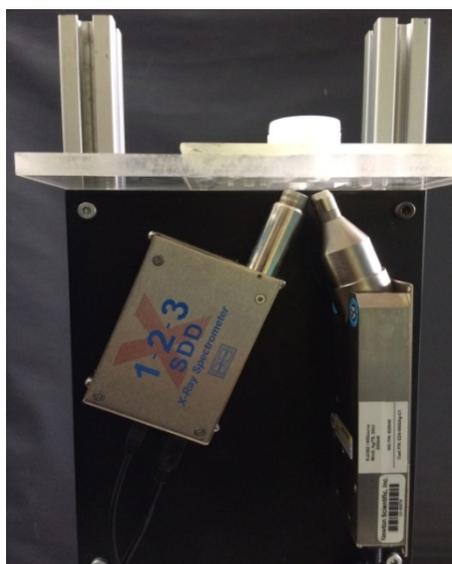
4.2. Métodos

A técnica de ED-XRF foi escolhida, pois permite a determinação simultânea de vários elementos em uma ampla gama de concentrações, requer preparação mínima da amostra e atualmente os equipamentos de fluorescência tem um baixo custo de aquisição em relação a técnicas com a mesma finalidade e são de fácil operação.

As análises de fluorescência foram realizadas em triplicata usando um sistema compacto, adquirido da empresa Amptek Inc. (Bedford, Massachusetts, EUA), o qual usa uma fonte de raios-X portátil, com alvo de prata e detector de silício drift (SDD).

Uma fotografia da montagem experimental é mostrada na Figura 4.2.1.

Figura 4.2.1 – Fotografia da montagem experimental, mostrando a fonte de raios-X, o detector de silício drift (SDD) e porta amostra.



Fonte: Elaboração própria

4.2.1. Especificações do Equipamento de ED-XRF

Foi utilizado neste trabalho um equipamento de fluorescência de raios-X por dispersão em energia (ED-XRF), comercializado pela empresa Amptek Inc. (Bedford, Massachusetts, EUA, <http://amptek.com/>). O equipamento foi montado pelo grupo de Física Nuclear Aplicada da Uniso, após a aquisição das partes principais da empresa Amptek, ou seja, fonte de raios-X, detector e softwares de aquisição e análise de dados. As especificações das partes principais deste equipamento são: a) detector de raios-X de silício drift (SDD) com área de 25 mm² e resolução de 140 eV, para a linha K_α do elemento Manganês, b) tubo de raios-X com alvo de prata. As medidas foram feitas usando o seguinte a configuração:

- a) Período de irradiação de 300 s;
- b) 2048 canais no analisador multicanal;
- c) Tempo morto de aproximadamente 30%;
- d) Fonte de raios-X foi ajustada para 30 kV de voltagem e 10 μA de corrente elétrica. Não foram usados filtros na frente da fonte de raios-X ou no detector.

4.2.2. Calibração do sistema de Fluorescência

Em geral, a análise quantitativa dos raios-X característicos provenientes da fluorescência é realizada por meio de uma calibração prévia do sistema. Esta calibração deve ser realizada usando-se material com composição conhecida e que tenha características semelhantes à das matrizes que se deseja medir. Podem ser padrões certificados ou construídos usando-se material de referência. Dependendo da aplicação e do tipo de matriz utilizada na preparação das amostras pode ser difícil obter padrões certificados, com as mesmas características das matrizes que se pretende medir.

Neste trabalho optou-se por construir as matrizes usando-se material de referência. Como nossas amostras foram preparadas prensando os extratos secos vegetais e as plantas moídas até formarem pastilhas, optamos por preparar o material que seria usado no processo de calibração usando o mesmo procedimento, ou seja, foram feitas pastilhas contendo concentrações conhecidas dos diferentes elementos químicos de interesse, os quais foram misturados numa base apropriada usada como aglutinante, propiciando assim, a obtenção de pastilhas após o

processo de prensagem. O composto usado como base, continha elementos leves, a fim de interferir o mínimo possível com o processo de fluorescência, além de fornecer a matriz mais próxima possível dos extratos secos e plantas moídas, objetos desta análise. A base escolhida é comercializada pela empresa *Premier LabSupply* (<https://www.premierlabsupply.com/product-category/products-for-press-pelletizing/>), sob o nome comercial *Pellet Blend PB-100* (composição: N,N'-Ethylenebisstearamide, CAS Number 110-30-5 e Fatty Acid (C14-18) CAS Number 67701-02-4), sendo composto basicamente por átomos de Carbono na sua grande maioria e em menor proporção os átomos de Oxigênio, Nitrogênio e Hidrogênio fazem parte do composto.

As pastilhas usadas para calibrar o sistema bem como as das amostras de extratos secos e plantas moídas, foram feitas utilizando-se máquina de compressão ajustada para carga de 15 toneladas. O punção e matriz utilizados na confecção das pastilhas tinham 22 mm de diâmetro, foram analiticamente pesados 3 g de material para a confecção de cada pastilha, resultando em pastilhas com 3 mm de altura aproximadamente. Para a calibração do sistema de fluorescência foram feitos conjuntos de pastilhas contendo concentrações conhecidas para os principais elementos químicos de interesse.

4.2.3. Análise Estatística Multivariada dos Dados

A análise multivariada refere-se ao estudo das relações entre conjuntos de medidas, de mais de uma variável ou atributo, realizadas em uma amostra de objetos. Neste trabalho, os objetos são as plantas moídas e extratos secos, cujos atributos são os elementos químicos detectados por ED-XRF nas respectivas proporções em cada amostra.

Dois métodos foram escolhidos para a análise multivariada neste trabalho: O primeiro método é o de análise por agrupamento, para se observar similaridades entre as plantas em ambos os processamentos (planta moída ou extrato seco) e o segundo método é o de decomposição em componentes principais (*PCA – principal component analysis*), para se verificar quais elementos químicos contribuem com mais informações para caracterizar cada planta em função do modo que foi processada.

4.2.3.1. Análise por Agrupamentos (*clustering*)

A análise de agrupamentos consiste em procurar subdividir os objetos em grupos, de tal maneira que objetos com atributos semelhantes fiquem próximos entre si em algum espaço de representação gráfico adequado. Neste espaço pode-se então perceber a formação de grupos, com uma separação razoavelmente nítida entre si.

Neste processo de subdivisão, as distâncias entre os objetos do mesmo grupo devem ser as menores possíveis, comparadas com as distâncias entre objetos de grupos diferentes. Tais distâncias devem ser definidas a partir das medidas dos atributos, estabelecendo-se o quanto o conjunto de atributos seja diferente em cada objeto.

Os espaços de representação tipicamente utilizados são gráficos bi ou tridimensionais, para dois ou três atributos, e os dendrogramas, para três ou mais atributos. Nos gráficos, cada objeto aparece como um ponto. Os dendrogramas são representações em forma de árvore onde cada terminal ou folha representa um objeto e os ramos representam os grupos.

Uma forma de comparar objetos que apresentam N características é realizar agrupamentos por similaridade (*clustering analysis*). Objetos muito semelhantes entre si apresentam poucas diferenças nessas N características. Como exemplo, vamos supor $N=2$, isto é, duas características numéricas x e y de M objetos, que podem ser colocadas em um gráfico bidimensional (Figura 4.2.3.1.1).

A semelhança entre os objetos pode ser medida como uma “distância entre os dados dos objetos”. Dentre as várias medidas, a euclidiana e a correlação são frequentemente usadas. Além disso, tais medidas, no caso de agrupamentos, são sempre avaliadas entre pares de objetos (THEODORIDIS, S.; KOUTROUMBAS, 2009).

Uma forma de representar graficamente estas relações de distância ou correlação é através do dendrograma, em que cada bifurcação se encontra no nível de distância ou correlação que separa dois objetos (no primeiro nível) e nos demais níveis as bifurcações exprimem as distâncias entre os centros dos grupos.

O dendrograma é construído hierarquicamente, por meio de aglutinações sucessivas de objetos, com a medida da distância ou correlação a cada aglutinação realizada (JAIN, A.K., DUBES, 1988).

A Figura 4.2.3.1.2 mostra o dendrograma referente aos objetos da Figura 4.2.3.1.1. Analisando-se as bifurcações da árvore apresentada, observa-se que os objetos d, e formam um grupo bem separado dos demais. A distância entre eles é 1.0 e da sua bifurcação para o restante é 7.5. Em seguida, os objetos i, j distam entre si de 1.42, mas distam um pouco mais de 4 unidades dos demais. Os objetos b, c estão à distância de 1 unidade um do outro e pouco mais de 3 unidades dos objetos restantes. Os objetos *f, g, h* ea, podem ser considerados do mesmo grupo, pois a distância entre eles varia de 1 a 1.5 unidades. Portanto, o dendrograma é uma representação gráfica bastante útil para demonstrar similaridades entre objetos, mesmo que sejam expressos por N características, o que torna inviável para uma visualização no espaço N-dimensional.

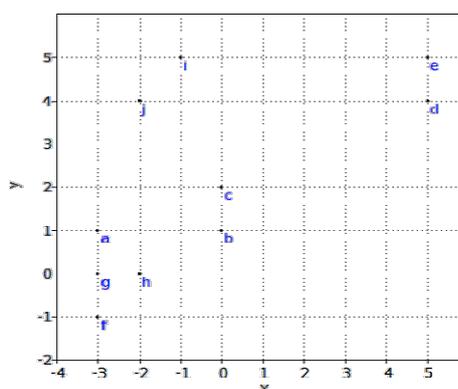
O software utilizado para a análise de agrupamentos foi o PaSt (Paleontological Statistics) (HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., RYAN, 2001).

É um software livre, capaz de importar dados de planilhas e apresentar gráficos onde os objetos podem ser rotulados em cima dos pontos plotados. O dendrograma resultante da correlação entre os elementos químicos encontrados foi construído por este software.

O dendrograma junto com o mapa de agrupamentos das amostras foi feito utilizando o software Python com a biblioteca de análise de dados Seaborn e a biblioteca gráfica Matplotlib (MCKINNEY, 2013)

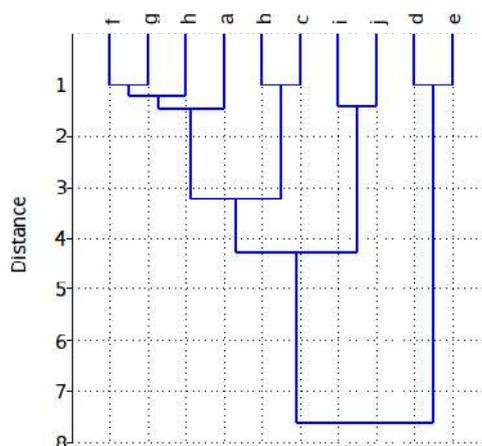
O único cuidado tomado após a importação dos dados da planilha foi configurar nos softwares a métrica de distância utilizada nas análises, no caso, a correlação.

Figura 4.2.3.1.1 – Distribuição dos objetos a – j no espaço de características xy



Fonte: Elaboração própria

Figura 4.2.3.1.2 – Exemplo de dendrograma do agrupamento hierárquico conforme a medida da distância euclidiana



Fonte: Elaboração própria

4.2.3.2. Análise por Componentes Principais

A análise por componentes principais (PCA – *Principal Component Analysis*) busca reduzir a dimensionalidade dos dados, expressando-os em termos de novas variáveis chamadas componentes que são combinações lineares das variáveis originais. Estas componentes são calculadas de forma hierárquica, ou seja, em ordem decrescente de informação que cada uma pode abranger sobre o conjunto de dados. Se variáveis originais estiverem muito correlacionadas, então elas transportam a mesma informação, ou seja, há uma redundância substancial. Usando a redução de dimensionalidade proporcionada pelas componentes principais (que retêm a maioria da informação) a análise de dados se torna mais facilitada ao pesquisador. Como consequência, há um balanço a ser feito entre simplicidade e objetividade (menos componentes principais) e riqueza e detalhamento das informações obtidas (utilizando mais componentes).

As componentes principais são variáveis produzidas como combinações lineares das variáveis originais em ordem de significância de informação. O primeiro componente principal contém a maior variância existente entre as variáveis originais. Se os dados forem bivariados, este componente principal apresenta um eixo orientado ao longo do maior eixo definido pela distribuição dos dados no espaço bidimensional, o mesmo ocorrendo para dimensões maiores. O segundo

componente principal define um eixo ortogonal ao primeiro, de modo que a variância restante seja ainda a maior possível. E assim sucessivamente para os demais componentes. Como resultado, devido à ortogonalidade obtida, as componentes principais são mutuamente não correlacionadas e cada uma delas explica a maior quantidade possível de variação ainda não explicada pelas componentes anteriores (hierarquicamente acima dela).

Em uma análise de componentes principais, o agrupamento das amostras define a estrutura dos dados através de gráficos de *scores* e *loadings*. Nestes gráficos, seus eixos são as componentes principais (CPs). Os *scores* fornecem a composição das CPs em relação às amostras, sendo calculados como as projeções dos atributos x_{np} nos novos eixos das CPs. Os *loadings* informam a composição das CPs em relação às variáveis, sendo calculados pelo cosseno do ângulo entre o eixo de cada variável e o eixo de cada CP. Assim, é possível examinar as relações entre amostras e variáveis através de tais gráficos, graças à ortogonalidade das CPs. Este estudo conjunto ainda permite observar a influência de cada variável em cada amostra.

O software utilizado para a análise de componentes principais também foi o PaSt (PaleontologicalStatistics) (HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., RYAN, 2001).

Da mesma forma que na análise de agrupamentos, os dados brutos são selecionados e o software permite a seleção da PCA com a geração dos gráficos *scree*, *scores* e *loadings*.

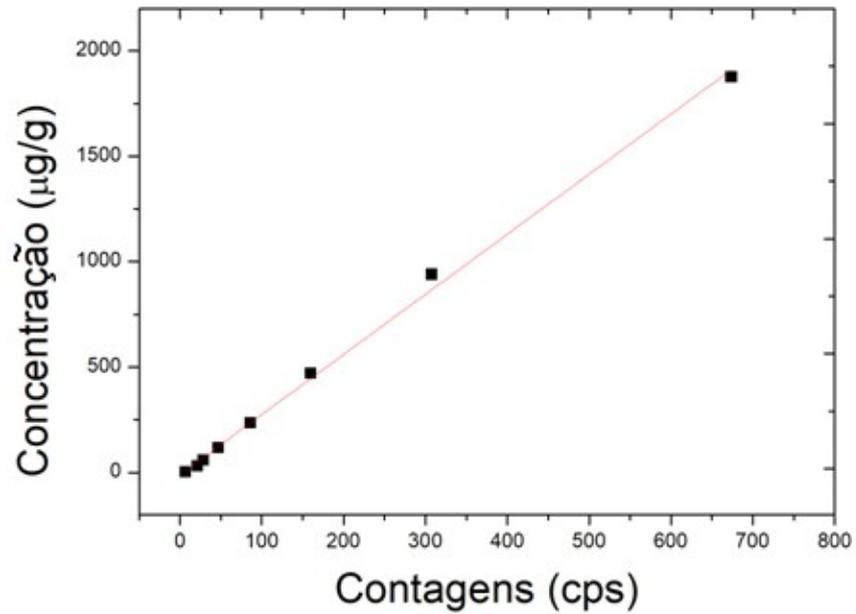
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todos os extratos secos e plantas moídas foram processados e analisados qualitativa e quantitativamente através do software XRF-FT (Amptek, Inc.). O software fornece para os elementos escolhidos na análise suas respectivas concentrações. Isso só é possível porque anteriormente foi inserida no software a calibração em energia, que permite a correta identificação dos raios-X característicos provenientes dos diferentes elementos químicos e as curvas de calibração em intensidade, que transformam as contagens dos raios-X característicos em concentrações. Esta etapa é de suma importância, pois corrige efeitos provenientes da matriz em análise, como absorção, reexcitação, etc., bem como diferenças na eficiência do processo de excitação dos elementos químicos presentes na matriz, conduzindo a determinações mais precisas das concentrações.

Em média foram usadas cinco concentrações diferentes para cada elemento químico calibrado. Também foram usadas na calibração e checagem do sistema de fluorescência, duas pastilhas de gramíneas certificadas, fornecidas pelo Grupo de Física Nuclear Aplicada da Universidade Estadual de Londrina – UEL. Após a calibração do sistema de fluorescência, os limites de detecção foram estabelecidos, sendo que para alguns elementos os mesmos ficaram abaixo de 1 $\mu\text{g/g}$. As Figuras 5.1, 5.2, 5.3 e 5.4 mostram as curvas de calibração obtida para os elementos químicos mercúrio, arsênio, chumbo e cádmio respectivamente.

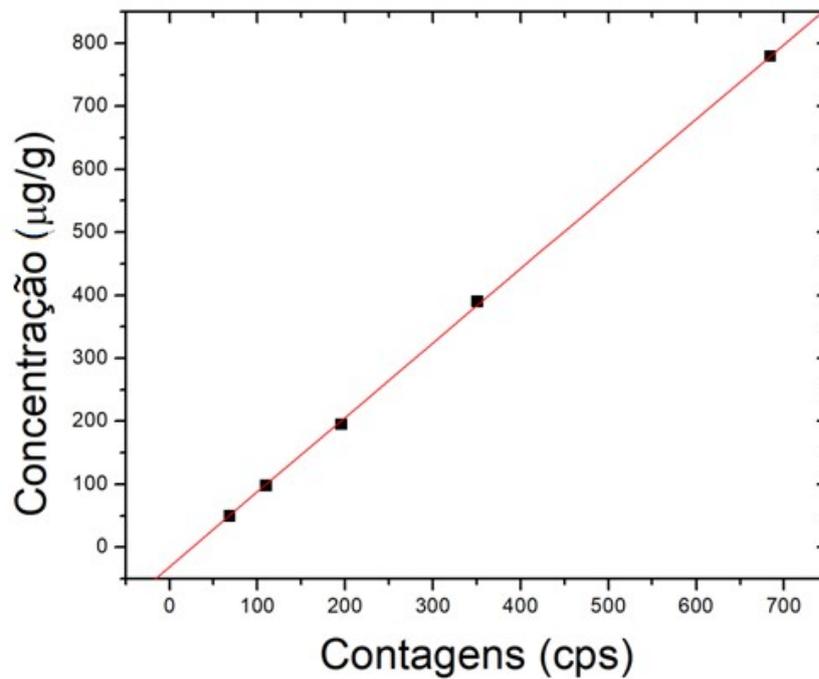
O eixo das abscissas mostra o número de raios-X característicos que atingem o detector em contagens por segundo (cps) e o eixo das ordenadas são as concentrações de cada pastilha usada na calibração do elemento em questão em $\mu\text{g/g}$. Verifica-se que para algumas curvas mesmo para concentrações muito baixas, da ordem de 1 $\mu\text{g/g}$ ou menor, ainda é possível detectar raios-X característicos, indicando alta sensibilidade do sistema para a detecção do elemento em questão.

Figura 5.1- Curva de calibração para o elemento químico Mercúrio. A Reta de calibração $C = 2.84 \text{ Cont} - 9.16$ possui $R^2 = 0.9974$.



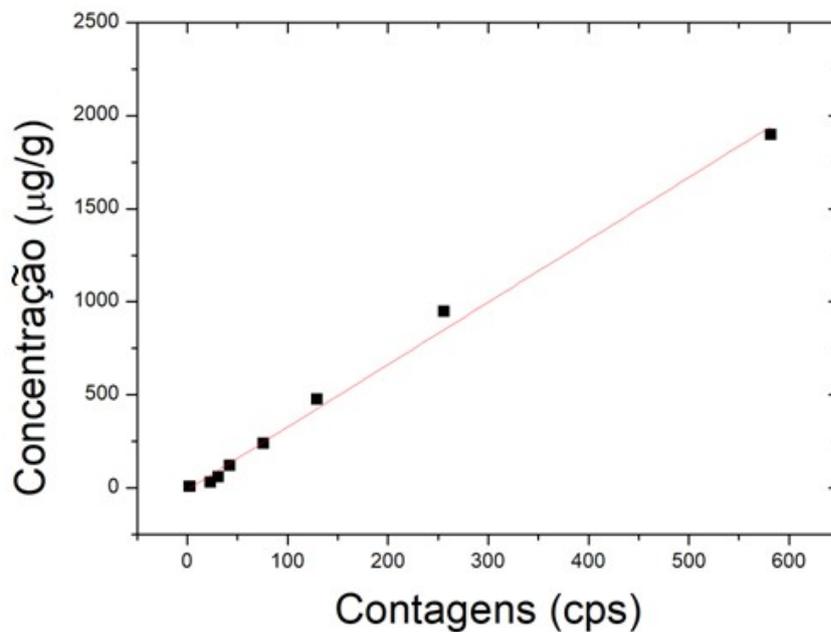
Fonte: Elaboração Própria

Figura 5.2 - Curva de calibração para o elemento químico Arsênio. A Reta de calibração $C = 1.18 \text{ Cont} - 30.74$ possui $R^2 = 0.9997$.



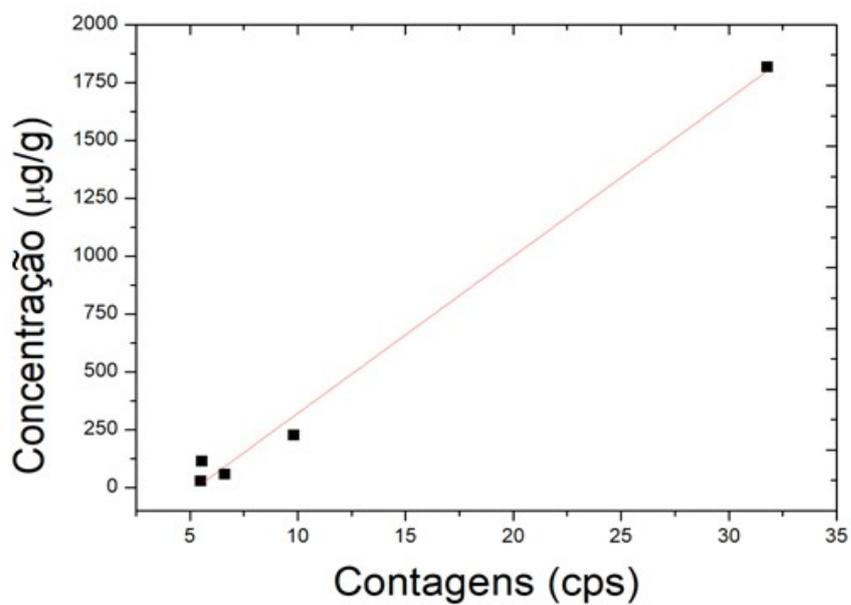
Fonte: Elaboração Própria

Figura 5.3 - Curva de calibração para o elemento químico Chumbo. A Reto de calibração $C = 3.35 \text{ Cont} - 7.89$ possui $R^2 = 0.9945$.



Fonte: Elaboração Própria

Figura 5.4- Curva de calibração para o elemento químico Cádmio. A Reto de calibração $C = 67.88 \text{ Cont} - 356.62$ possui $R^2 = 0.9904$.



Fonte: Elaboração Própria

5.1. Resultado Geral

Todos os resultados obtidos pela técnica de fluorescência de raios-X foram feitos em triplicata, permitindo assim a obtenção dos valores médios das concentrações e os respectivos desvios padrões. As Tabelas 5.1.1 (a) e a continuação 5.1.1 (b), trazem as concentrações obtidas para os extratos secos das plantas medicinais e a Tabela 5.1.2 as concentrações para as plantas medicinais moídas. A concentração e o erro foram medidos em $\mu\text{g/g}$ (ppm).

Os resultados mostram que tanto para os extratos secos das plantas medicinais, bem como para as plantas medicinais moídas, uma gama enorme de elementos químicos puderam ser identificados e quantificados, ou seja, algo em torno de 26 elementos aparecem em quase todas as amostras analisadas.

Alguns elementos químicos identificados são de vital importância para o metabolismo humano como Ca, K, Fe, etc. (OBIAJUNWA; ADEBAJO; OMOBUWAJO, 2002) e outros, como os metais pesados As, Hg, Pb e Cd são considerados tóxicos, podendo trazer sérios riscos à saúde quando absorvidos acima de certos limites.

Para melhorar o processo de fabricação usado na produção dos extratos secos, em alguns casos é necessário o uso de adjuvantes, por exemplo, para reduzir a umidade do extrato seco, impedindo que ele se acumule nas paredes dos componentes do equipamento ou para melhorar sua aparência, cor, etc. No entanto, o uso de adjuvantes pode introduzir contaminantes nos extratos secos ou adicionar elementos que não estavam originalmente presentes nas plantas moídas, como o elemento silício, que devido ao uso da substância dióxido de silício como secante, o elemento químico Silício foi introduzido em alguns extratos secos, como pode ser visto quando se compara o extrato seco de chá verde com o valor obtido para a planta moída, onde este elemento não estava presente. O uso de adjuvantes pode também introduzir contaminações por metais pesados como Hg, Pb e Cd contribuindo assim para o aumento da contaminação do produto final.

Tabela 5.1.1(a) – Elementos químicos identificados e quantificados ($\mu\text{g/g} \pm \text{DP}$) nos extratos secos de plantas medicinais (amostra 1 a 7).

Número da Amostra	1	2	3	4	5	6	7
Nome Científico	<i>Cynara scolymus L.</i>	<i>Myrciaria Dubia</i>	<i>Solanum Sessiliflorum</i>	<i>Camellia sinensis L.</i>	<i>Rhamus purshiana</i>	<i>Camellia Sinensis L.</i>	<i>Malpighia glabra L.</i>
Nome Popular	Alcachofra	CamuCamu	Mana Cubiu	Chá Verde	Cascara Sagrada	Matchá	Acerola
Elementos	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração
As					0.2 \pm 0.1		
Cr	23 \pm 1.3	13 \pm 0.8	16 \pm 0.9	15 \pm 0.8	22 \pm 1.2	14 \pm 0.8	12 \pm 0.7
Cu	28 \pm 0.9	17 \pm 0.5	16 \pm 0.5	16 \pm 0.5	27 \pm 0.9	16 \pm 0.5	14 \pm 0.5
Fe	104 \pm 3.4	65 \pm 2.1	65 \pm 2.1	61 \pm 2.0	94 \pm 3.1	62 \pm 2.0	57 \pm 1.8
Ni	46 \pm 3.4	25 \pm 2.0	26 \pm 2.1	25 \pm 1.9	44 \pm 3.3	25 \pm 1.9	22 \pm 1.8
Zn	25 \pm 1.4	14 \pm 0.7	14 \pm 0.8	14 \pm 0.7	25 \pm 1.3	13 \pm 0.7	12 \pm 0.7
Si		27312 \pm 3970	17596 \pm 2795	45341 \pm 6167		28298 \pm 4081	46370 \pm 242
P	150 \pm 11				192 \pm 16		
S	3677 \pm 150	5444 \pm 309		5239 \pm 312	2034 \pm 111	3610 \pm 263	751 \pm 143
Cl	2992 \pm 107	2534 \pm 113	2100 \pm 93	3923 \pm 154	175 \pm 45	3450 \pm 139	1125 \pm 60
K	9300 \pm 230	690 \pm 103	1903 \pm 101	708 \pm 113	1223 \pm 107	148 \pm 71	762 \pm 92
Ca	38 \pm 4	33 \pm 1.6	19 \pm 1.7	11 \pm 8.8	16 \pm 2.4	4.4 \pm 1.4	2 \pm 0.6
V	15 \pm 2.1	6 \pm 1.1	9 \pm 1.4	5 \pm 1.0	18 \pm 2.1	6 \pm 1.1	6 \pm 1.0
Mn	142 \pm 9	71 \pm 6	72 \pm 6	76 \pm 6	106 \pm 9	72 \pm 6	58 \pm 6
Co	2 \pm 0.5	2 \pm 0.3	1 \pm 0.3	2 \pm 0.3	2 \pm 0.4	1 \pm 0.3	1 \pm 0.3
Rb	13 \pm 1.7	4 \pm 1.5	4 \pm 1.3	3 \pm 1.1	2 \pm 2.1	4 \pm 1.1	4 \pm 1.0
Zr	6 \pm 1.7	5 \pm 1.2	2 \pm 0.7	5 \pm 1.2	7 \pm 2.1	4 \pm 1.1	6 \pm 1.3
Cd	2 \pm 0.2	5 \pm 0.5	5 \pm 0.4		1 \pm 0.2		2 \pm 0.2
Sn	14 \pm 7.0	5 \pm 2.9	8 \pm 3.9	6 \pm 3.3	15 \pm 7.8	7 \pm 3.6	7 \pm 3.4
Ba	4 \pm 1.2	2 \pm 0.7	5 \pm 1.2	4 \pm 1.1	2 \pm 1.0	4 \pm 1.1	2.3 \pm 0.7
Hg	3 \pm 0.5	1 \pm 0.2	1 \pm 0.2	1 \pm 0.2	2 \pm 0.4	1 \pm 0.21	0.4 \pm 0.2
Pb	3 \pm 0.5	2 \pm 0.3	2 \pm 0.3	2 \pm 0.3	4 \pm 0.6	1.40 \pm 0.23	1.8 \pm 0.3
Bi	1 \pm 0.4	1 \pm 0.2			1 \pm 0.5	0.47 \pm 0.20	0.3 \pm 0.2
Mo			0.32 \pm 0.06				
Pt	1.0 \pm 0.3	2.3 \pm 0.3	0.6 \pm 0.2	0.8 \pm 0.2	1.1 \pm 0.5	0.60 \pm 0.20	0.5 \pm 0.2

Fonte: Elaboração própria

Tabela 5.1.1(b) – Elementos químicos identificados e quantificados ($\mu\text{g/g} \pm \text{DP}$) nos extratos secos de plantas medicinais (amostra 8 a 14).

Número da Amostra	8	9	10	11	12	13	14
Nome Científico	<i>Paulina cupana K.</i>	<i>Illex paraguariensis</i>	<i>Maytenus illicifolia L.</i>	<i>Equinacea purpúrea L.</i>	<i>Melissa officinalis L.</i>	<i>Passiflora incarnata L.</i>	<i>Aesculus hippocastanum L.</i>
Nome Popular	Guaraná	Mate Verde	Espinheira Santa	Equinácea	Melissa	Passiflora	Castanha da Índia
Elementos	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração
As	0.1 \pm 0.1		0.2 \pm 0.1	1.3 \pm 0.2	2.0 \pm 0.2		
Cr	19.6 \pm 1.1	16 \pm 0.9	18 \pm 1.0	24 \pm 1.5	23 \pm 1.4	25 \pm 1.5	12 \pm 0.7
Cu	22 \pm 0.7	20.6 \pm 0.7	21 \pm 0.7	35 \pm 1.1	36 \pm 1.1	35 \pm 1.1	20 \pm 0.6
Fe	90 \pm 2.9	94 \pm 2.7	78 \pm 2.5	120 \pm 4.0	108 \pm 3.6	127 \pm 4.0	60 \pm 2.0
Ni	39 \pm 3.2	32 \pm 2.3	33.3 \pm 2.4	51 \pm 3.9	49 \pm 3.9	51 \pm 3.6	25.5 \pm 2.0
Zn	21 \pm 1.2	19.9 \pm 0.9	18.3 \pm 1.0	33.2 \pm 1.5	29.4 \pm 1.4	30.6 \pm 1.4	14.5 \pm 0.7
Si		35076 \pm 5062	20340 \pm 3257				214743 \pm 26895
P	42 \pm 38	1308 \pm 190	989 \pm 464	222 \pm 170	873 \pm 359	204 \pm 224	5919 \pm 1410
S	2370 \pm 110	4297 \pm 259	6779 \pm 306	153 \pm 29	499 \pm 50	2017 \pm 100	1223 155
Cl	1889 \pm 87	2592 \pm 109	4904 \pm 173	1002 \pm 39	1727 \pm 59	4708 \pm 135	989 \pm 52
K	490 \pm 117	12544 \pm 291	8910 \pm 236	19469 \pm 364	33915 \pm 600	25115 \pm 473	31252 \pm 597
Ca	101 \pm 11	228 \pm 19	532 \pm 25	289 \pm 13	51 \pm 16	1068 \pm 39	88 \pm 18
V	8 \pm 1.4	7 \pm 1.2	12 \pm 1.7	10 \pm 1.8	17 \pm 2.5	13 \pm 2.1	6 \pm 1.1
Mn	102 \pm 8	385 \pm 11	94 \pm 7	187 \pm 10	127 \pm 11	137 \pm 10	59 \pm 8
Co	2 \pm 0.4	1.5 \pm 0.4	1.7 \pm 0.3	4 \pm 0.6	3 \pm 0.5	2.4 \pm 0.5	1.2 \pm 0.3
Rb	5 \pm 1.7	9 \pm 1.1	10 \pm 1.1	21 \pm 1.5	26 \pm 1.5	14 \pm 1.7	7 \pm 0.9
Zr	8.8 \pm 2.1	7.1 \pm 1.7	10 \pm 2.2	8 \pm 2.1	6.5 \pm 1.9	16 \pm 3.5	3.1 \pm 0.9
Cd	1 \pm 0.1	2 \pm 0.3	4 \pm 0.4	2 \pm 0.4	2 \pm 0.3	3 \pm 0.4	1 \pm 0.1
Sn	10.1 \pm 5.3	13.8 \pm 6.5	11.1 \pm 5.5	14.6 \pm 7.7	20.3 \pm 9.9	11.8 \pm 6.4	6.9 \pm 3.6
Ba	1.3 \pm 0.7	0.9 \pm 0.7	2.9 \pm 1.0				1.1 \pm 0.9
Hg	1 \pm 0.3	1.2 \pm 0.3	2.5 \pm 0.4	5.3 \pm 0.7	18.0 \pm 1.2	4.4 \pm 0.66	0.5 \pm 0.2
Pb	3.1 \pm 0.5	2.0 \pm 0.3	1.6 \pm 0.3	3.6 \pm 0.5	2.5 \pm 0.5	4.2 \pm 0.6	1.4 \pm 0.2
Bi	1.0 \pm 0.4	0.6 \pm 0.3	0.5 \pm 0.3	1.5 \pm 0.5	1.1 \pm 0.5	0.4 \pm 0.4	0.3 \pm 0.2
Mo							
Pt	0.4 \pm 0.3	1.5 \pm 0.3	0.6 \pm 0.3	1.5 \pm 0.5	1.1 \pm 0.3	2.2 \pm 0.5	0.4 \pm 0.2

Fonte: Elaboração própria

Tabela 5.1.2 – Elementos químicos identificados e quantificados ($\mu\text{g/g} \pm \text{DP}$) nas plantas medicinais moídas.

Número da Amostra	15	16	17	18	19	20
Nome Científico	<i>Equinacea purpúrea L.</i>	<i>Maytenus ilicifolia L.</i>	<i>Camellia sinensis L.</i>	<i>Rhamus purshiana</i>	<i>Cynara scolymus L.</i>	<i>Paulina cupana K.</i>
Nome Popular	Equinácea	Espinheira Santa	Chá Verde	Cascara Sagrada	Alcachofra	Guaraná
Elementos	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração
As				0,5 \pm 0,2		
Cr	14,0 \pm 1,1	21,6 \pm 1,38	21,2 \pm 1,35	23,9 \pm 1,6	12,1 \pm 1,0	24,2 \pm 1,4
Cu	32,7 \pm 1,1	34,7 \pm 1,13	41,7 \pm 1,31	37,2 \pm 1,2	31,7 \pm 1,0	40,9 \pm 1,3
Fe	412 \pm 8	180 \pm 5	339 \pm 7	215 \pm 6	505 \pm 9	228 \pm 5
Ni	47,0 \pm 4,2	51,5 \pm 3,87	53,6 \pm 4,22	56,8 \pm 4,5	45,8 \pm 4,5	49,9 \pm 3,6
Zn	30,8 \pm 1,5	33,1 \pm 1,50	40,0 \pm 1,62	34,1 \pm 1,7	32,1 \pm 1,5	34,3 \pm 1,5
Si	6089 \pm 1534				3634 \pm 1138	
P	3414 \pm 417	1984 \pm 303	2141 \pm 316	576 \pm 331	1764 \pm 335	1788 \pm 279
S	1430 \pm 108	1106 \pm 85	1743 \pm 108	288 \pm 39	2287 \pm 121	1081 \pm 88
Cl	155 \pm 10	4535 \pm 132	472 \pm 25		12017 \pm 300	449 \pm 25
K	30155 \pm 541	18558 \pm 361	18886 \pm 359	4227 \pm 106	50290 \pm 875	12256 \pm 258
Ca	21467 \pm 556	12805 \pm 333	8500 \pm 223	18668 \pm 483	25357 \pm 656	170 \pm 7
Ti	214 \pm 22		112 \pm 30	189 \pm 51	231 \pm 19	72 \pm 23
V	5,5 \pm 1,4	4,2 \pm 1,1	5,83 \pm 1,29	4,5 \pm 3,3	6,0 \pm 1,6	9,9 \pm 1,8
Mn	214 \pm 10	170 \pm 10	1850 \pm 39	413 \pm 14	165 \pm 10	143 \pm 10
Co	3,5 \pm 1,1	2,5 \pm 0,6	2,5 \pm 1,0	1,9 \pm 0,7	3,7 \pm 1,2	3,7 \pm 0,8
Rb	19,0 \pm 1,5	14,7 \pm 1,9	41,8 \pm 1,7	19,6 \pm 1,9	37,7 \pm 1,6	16,1 \pm 1,6
Zr	28,8 \pm 4,0	21,6 \pm 4,4	22,1 \pm 4,7	39,0 \pm 3,5	31,1 \pm 3,4	18,7 \pm 3,9
Cd	1,8 \pm 0,2	1,9 \pm 0,2	0,5 \pm 0,1	2,0 \pm 0,3	1,1 \pm 0,2	1,8 \pm 0,2
Sn	17,3 \pm 8,7	16,7 \pm 8,5	20,8 \pm 10,2	23,2 \pm 11,5	13,5 \pm 7,1	14,1 \pm 7,4
Ba				35,9 \pm 4,4		3,6 \pm 1,3
Hg	6,4 \pm 0,8	2,8 \pm 0,6	1,5 \pm 0,6	1,4 \pm 0,5	8,2 \pm 0,8	2,9 \pm 0,6
Pb	2,7 \pm 0,4	3,1 \pm 0,5	4,0 \pm 0,6	3,9 \pm 0,6	3,3 \pm 0,5	4,0 \pm 0,6
Bi	0,51 \pm 0,38	1,8 \pm 0,5	1,4 \pm 0,5	0,5 \pm 0,45	0,8 \pm 0,4	0,6 \pm 0,4
Mo					0,8 \pm 0,3	
Pt		0,5 \pm 0,45				3,1 \pm 0,6

Fonte: Elaboração própria

A Tabela 5.1.3 mostra o resultado da análise dos adjuvantes e/ou excipientes utilizados no Processo produtivo.

Tabela 5.1.3 – Elementos químicos identificados e quantificados ($\mu\text{g/g} \pm \text{DP}$) nos adjuvantes/excipientes utilizados na produção dos extratos secos.

Adjuvantes				
	Amido de milho	Maltodextrina	Dióxido de silício	Corante caramelo
Elementos	Concentração	Concentração	Concentração	Concentração
As		1,5 \pm 0,2		0,4 \pm 0,2
Cr	22,1 \pm 1,2	22,7 \pm 1,2	11,0 \pm 0,6	13,8 \pm 1,1
Cu	40,0 \pm 1,4	36,6 \pm 1,3	11,8 \pm 0,4	27,4 \pm 1,0
Fe	109,1 \pm 3,7	105,0 \pm 3,5	46,4 \pm 1,5	92,5 \pm 3,5
Ni	68,5 \pm 5,0	65,3 \pm 4,7	18,2 \pm 2,2	64,9 \pm 4,7
Zn	40,2 \pm 2,3	35,6 \pm 2,2	12,1 \pm 0,6	33,9 \pm 2,2
Si			856144 \pm 105052	
P				
S				
Cl		141 \pm 10	66 \pm 41	
K	424 \pm 69	424 \pm 75	363 \pm 38	716 \pm 57
Ca				
Ti			84,5 \pm 22,1	44,5 \pm 15,5
V	16,5 \pm 2,1	17,1 \pm 2,1	14,5 \pm 1,6	3,4 \pm 0,9
Mn	112 \pm 10	111,2 \pm 9,5	3,1 \pm 10,1	99,4 \pm 18,5
Co	2,1 \pm 0,6	2,2 \pm 0,6	0,9 \pm 0,2	1,8 \pm 0,6
Rb	23,0 \pm 5,0	6,2 \pm 3,0	4,2 \pm 1,1	4,9 \pm 3,4
Zr	25,5 \pm 6,2	8,2 \pm 2,7	11,0 \pm 1,8	11,6 \pm 3,3
Cd	1,8 \pm 0,2	18,2 \pm 2,4	0,8 \pm 0,2	66,2 \pm 5,1
Sn	52,5 \pm 25,5	28,8 \pm 15,1	6,3 \pm 3,1	36,2 \pm 18,1
Ba	6,3 \pm 1,6	1,8 \pm 0,9	14,2 \pm 1,5	0,5 \pm 1,5
Hg	2,1 \pm 0,7	2,5 \pm 0,8	0,2 \pm 0,1	3,6 \pm 0,8
Pb	14,0 \pm 1,5	3,5 \pm 0,5	1,2 \pm 0,2	1,8 \pm 0,5
Bi	5,2 \pm 1,1	0,6 \pm 0,7	0,1 \pm 0,1	1,8 \pm 0,5
Mo				
Pt	1,7 \pm 0,7	2,3 \pm 0,7		

Fonte: Elaboração própria.

A Tabela 5.1.4 traz o Limite Máximo Permitido (LMP) da concentração de elementos químicos pela Farmacopeia Brasileira para ingestão por via oral, estudados neste trabalho. A Tabela 5.1.5 traz o LMP da concentração de elementos químicos pela Farmacopeia Americana, também considerando que a ingestão ocorre pela via oral.

Tabela 5.1.4 – LMP da concentração de elementos químicos pela Farmacopeia Brasileira 5ª Edição quando em uso oral.

Elemento	Uso Oral Limite Máximo (µg/g)
Arsênio (As)	1,5
Cádmio (Cd)	0,5
Chumbo (Pb)	1,0
Mercúrio (Hg)	1,5
Crômio (Cr)	25
Cobre (Cu)	250
Manganês (Mn)	250
Molibdênio (Mo)	25
Níquel (Ni)	25
Platina (Pt)	10
Vanádio (V)	25

Fonte: (BRASIL, 2010)

Tabela 5.1.5 – LMP da concentração de elementos químicos pela Farmacopeia Americana (United States Pharmacopoeia - USP 40) quando em uso oral.

Elemento	Uso Oral Limite Máximo (µg/g)
Cádmio (Cd)	0,5
Chumbo (Pb)	0,5
Arsênio (As)	1,5
Mercúrio (Hg)	3
Cobalto (Co)	5
Vanádio (V)	10
Níquel (Ni)	20
Platina (Pt)	10
Bário (Ba)	140
Molibdênio (Mo)	300
Cobre (Cu)	300
Estanho (Sn)	600
Crômio (Cr)	1100

Fonte: (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2017)

5.1.1. Arsênio

O Arsênio é um dos metais pesados mais importantes que causam perturbação da saúde ecológica e individual (HUGHES; POLISSAR; VAN BELLE, 1988).

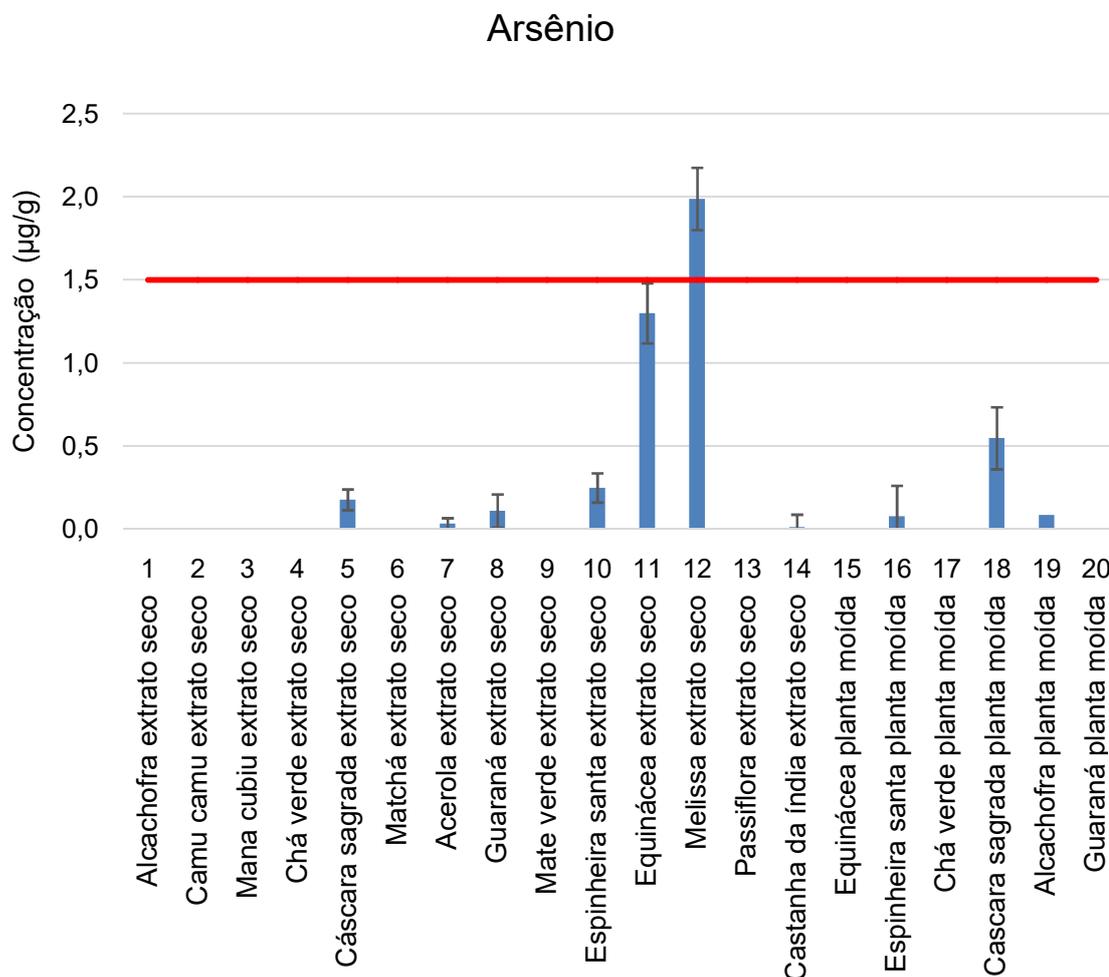
O Arsênio é o vigésimo elemento mais abundante na Terra e suas formas inorgânicas, como arsenito e arsenato são compostos letais para o meio ambiente e criaturas vivas. Os seres humanos podem se contaminar com arsênico por meios naturais ou por fontes industriais (JAISHANKAR et al., 2014).

O Arsênio tem propriedade semi metálica é proeminentemente tóxico e cancerígeno e é extensamente disponível sob a forma de óxidos ou sulfuretos (SINGH; KUMAR; SAHU, 2007). Mesmo em níveis baixos a exposição ao Arsênio pode causar náusea, vômitos, redução da produção de eritrócitos e leucócitos, batimento cardíaco anormal, sensação de picada nas mãos e pernas e danos aos vasos sanguíneos (JAISHANKAR et al., 2014). A exposição a longo prazo pode levar à formação de lesões cutâneas internas, cânceros, problemas neurológicos, doença pulmonar, doença vascular periférica, hipertensão e doenças cardiovasculares e diabetes mellitus (SMITH; LINGAS; RAHMAN, 2000).

O LMP para o elemento Arsênio de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) e a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 1.5 µg/g, mostrado no gráfico 5.1.1.1 como uma linha vermelha.

Observa-se pela Figura 5.1.1.1 que de todas as amostras analisadas, apenas a amostra número 12 (extrato seco de melissa) indica um valor maior que o LMP. Não é possível uma análise mais detalhada sobre a origem desta contaminação, uma vez que, para este extrato não possuíamos a correspondente planta moída.

Figura 5.1.1.1 – Concentração de Arsênio nas amostras. A Linha vermelha representa o LMP estabelecido pelas Farmacopeias Brasileira e Americana para o elemento Arsênio.



Fonte: Elaboração própria

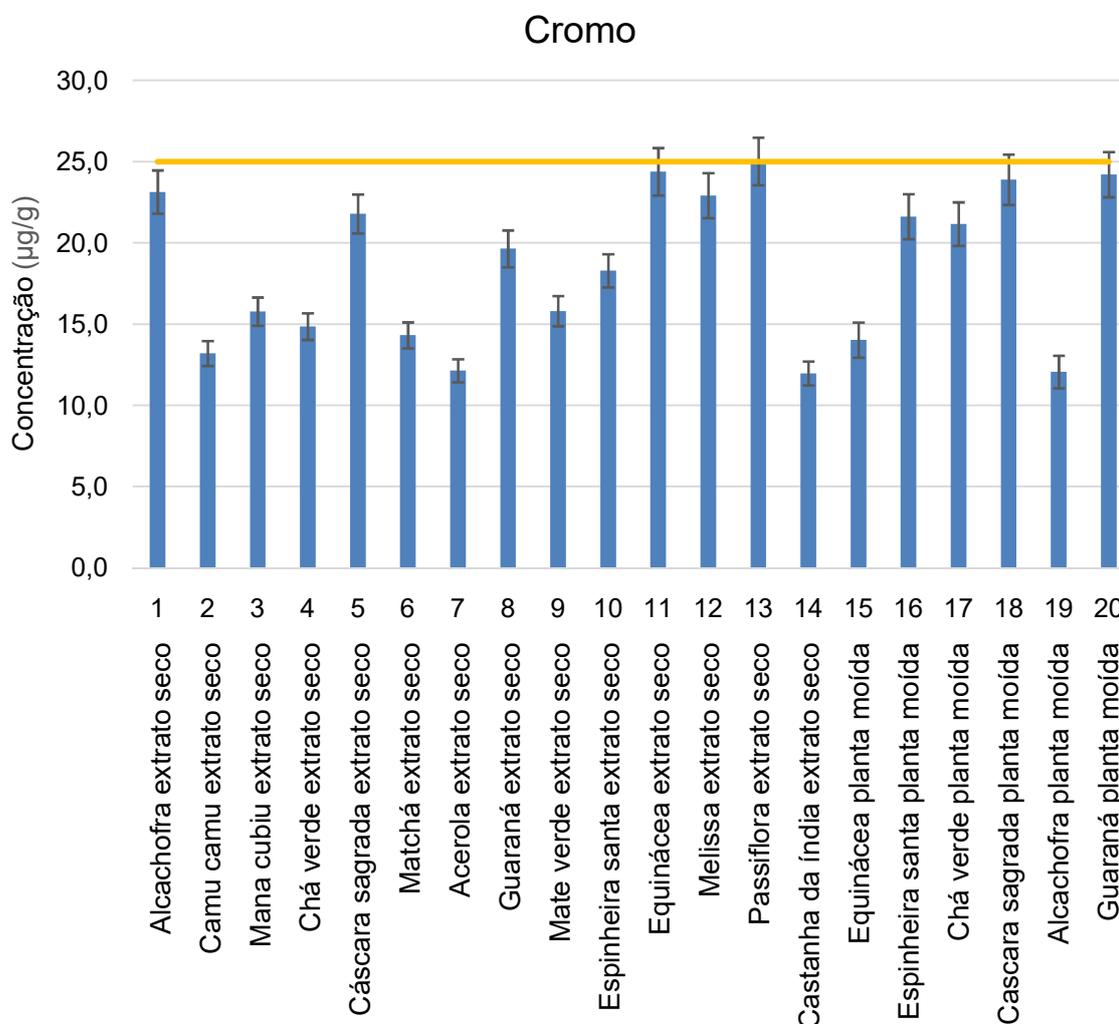
5.1.2. Cromo

O Cromo ou Crômio é um complemento nutricional essencial para animais e seres humanos tendo papel importante no metabolismo da glicose (JAISHANKAR et al., 2014). A ingestão de grande quantidade deste composto pelos seres humanos pode levar à inibição da glutathione eritrocitária redutase, que por sua vez diminui a capacidade de reduzir metemoglobina para hemoglobina. (KOUTRAS et al., 1965).

O LMP para o elemento Crômio de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) é de 25 µg/g mostrado no gráfico 5.1.2.1 como uma linha amarela e para a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 1100 µg/g considerado um alto LMP. Há uma grande discrepância entre os LMP estabelecidos nas Farmacopeias

Brasileira e Americana para o Cromo. Observa-se pela Figura 5.1.2.1 que nenhuma das amostras, indica um valor maior que o LMP pela Farmacopeia Brasileira.

Figura 5.1.2.1 – Concentração de Cromo nas amostras. A Linha amarela representa o LMP estabelecido pela Farmacopeia Brasileira para o elemento Cromo.



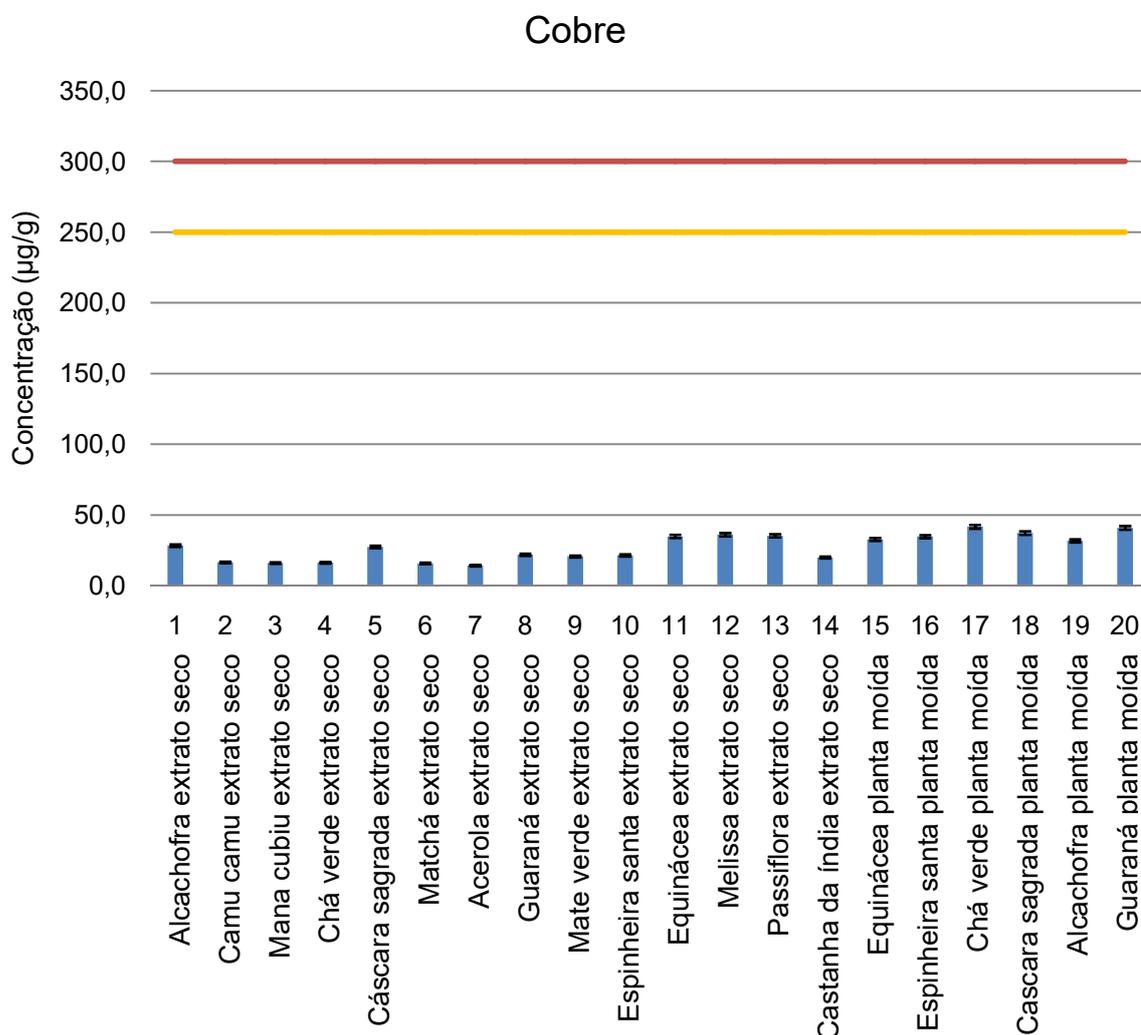
Fonte: Elaboração própria

5.1.3. Cobre

O LMP para o elemento Cobre de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) é de 250 µg/g e de acordo com a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 300 µg/g, ambos indicados no gráfico da Figura 5.1.3.1 como linhas amarela e vermelha, respectivamente.

Observa-se analisando a Figura 5.1.3.1 que nenhuma das amostras apresentou concentração superior aos LMPs.

Figura 5.1.3.1 – Concentração de Cobre nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Cobre.



Fonte: Elaboração própria

5.1.4. Ferro

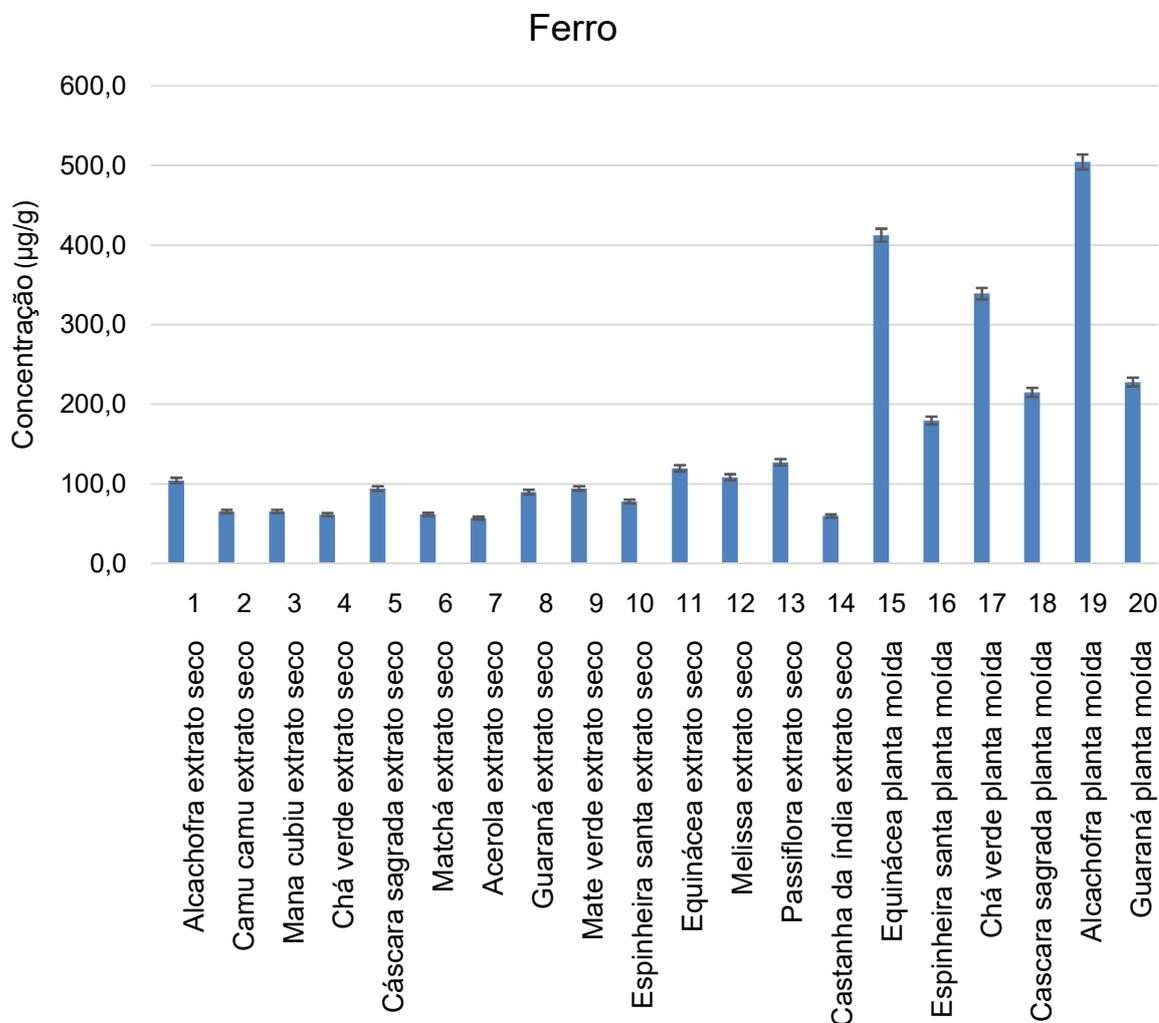
Embora a deficiência de Ferro cause anemia, o Ferro em excesso é particularmente perigoso em crianças e pode causar problemas gastrointestinais e problemas de pele (NKANSAH et al., 2016). O Ferro é um elemento importante para o corpo humano, pois desempenha um papel no transporte de oxigênio e elétrons. (OBIAJUNWA; ADEBAJO; OMOBUWAJO, 2002)

Não há LMP para o elemento Ferro nas monografias consultadas.

Observa-se na Figura 5.1.4.1 níveis maiores de Ferro nas amostras de plantas medicinais moídas do que a encontrada nos extratos secos das plantas

medicinais, o que sugere que o processo de fabricação dos extratos diminui a concentração deste elemento.

Figura 5.1.4.1 – Concentração de Ferro nas amostras.



Fonte: Elaboração própria

5.1.5. Níquel

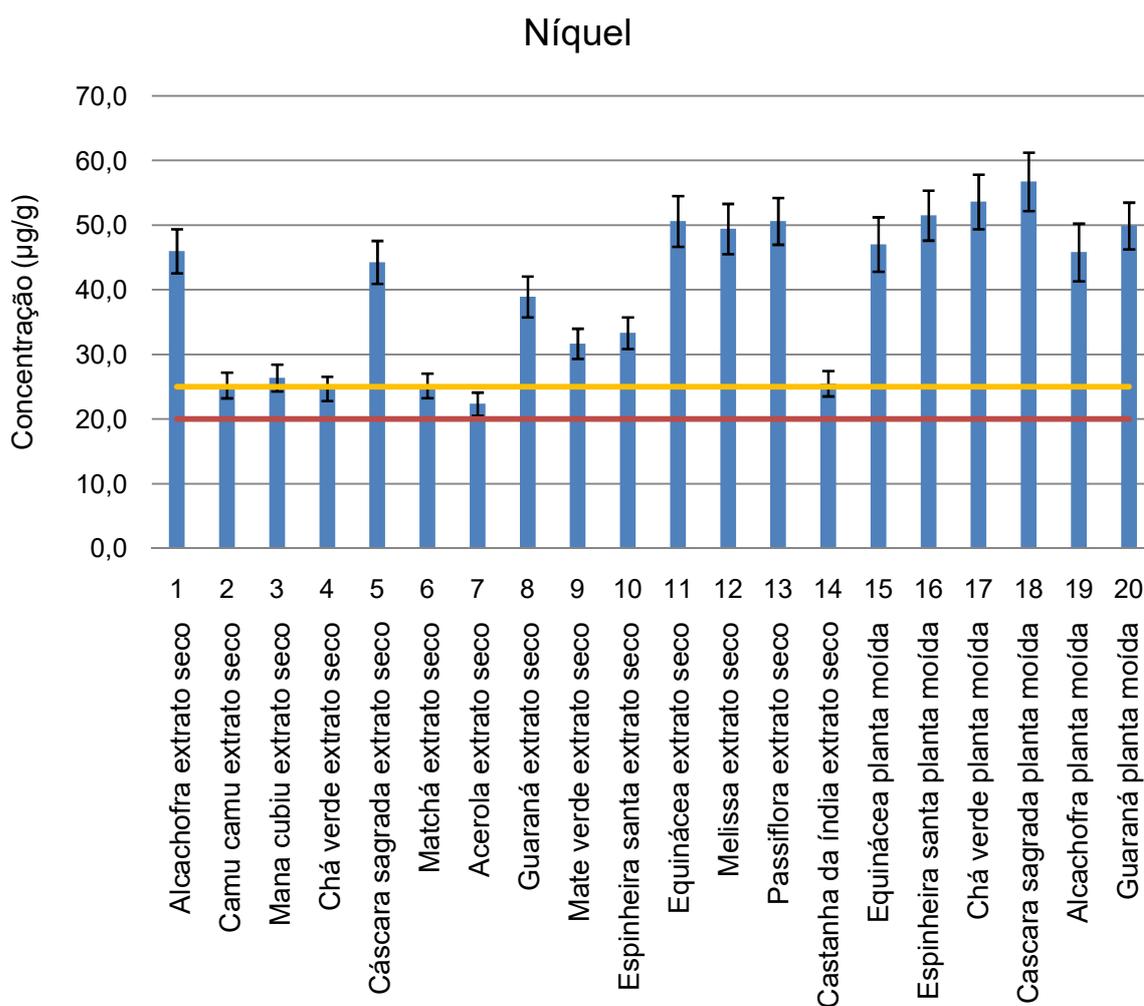
Ingerir níveis de níquel muito superiores aos normalmente encontrados pode causar doença pulmonar, afetar o estômago, sangue, fígado, rins e sistema imunológico, bem como reprodução e desenvolvimento. (ATSDR'S TOXICOLOGICAL PROFILES, 2019)

É principalmente acumulado na medula espinhal, cérebro e órgãos devido à sua mutabilidade e carcinogenicidade. (ZHONG; REN; ZHAO, 2016)

O LMP para o elemento Níquel de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) é de 25 µg/g e de acordo com a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 20 µg/g, ambos indicados no gráfico da Figura 5.1.5.1 como linhas amarela e vermelha, respectivamente.

Observa-se na Figura 5.1.5.1 que todas as amostras indicam valores acima do LMP e que os valores são maiores nas plantas medicinais moídas quando comparado aos extratos secos das plantas medicinais, o que sugere que o processo produtivo pode interferir diminuindo a concentração de Níquel nos extratos, porém em quantidades muito pequenas, sendo que a concentração final ainda permanece acima dos LMPs.

Figura 5.1.5.1 – Concentração de Níquel nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Níquel.



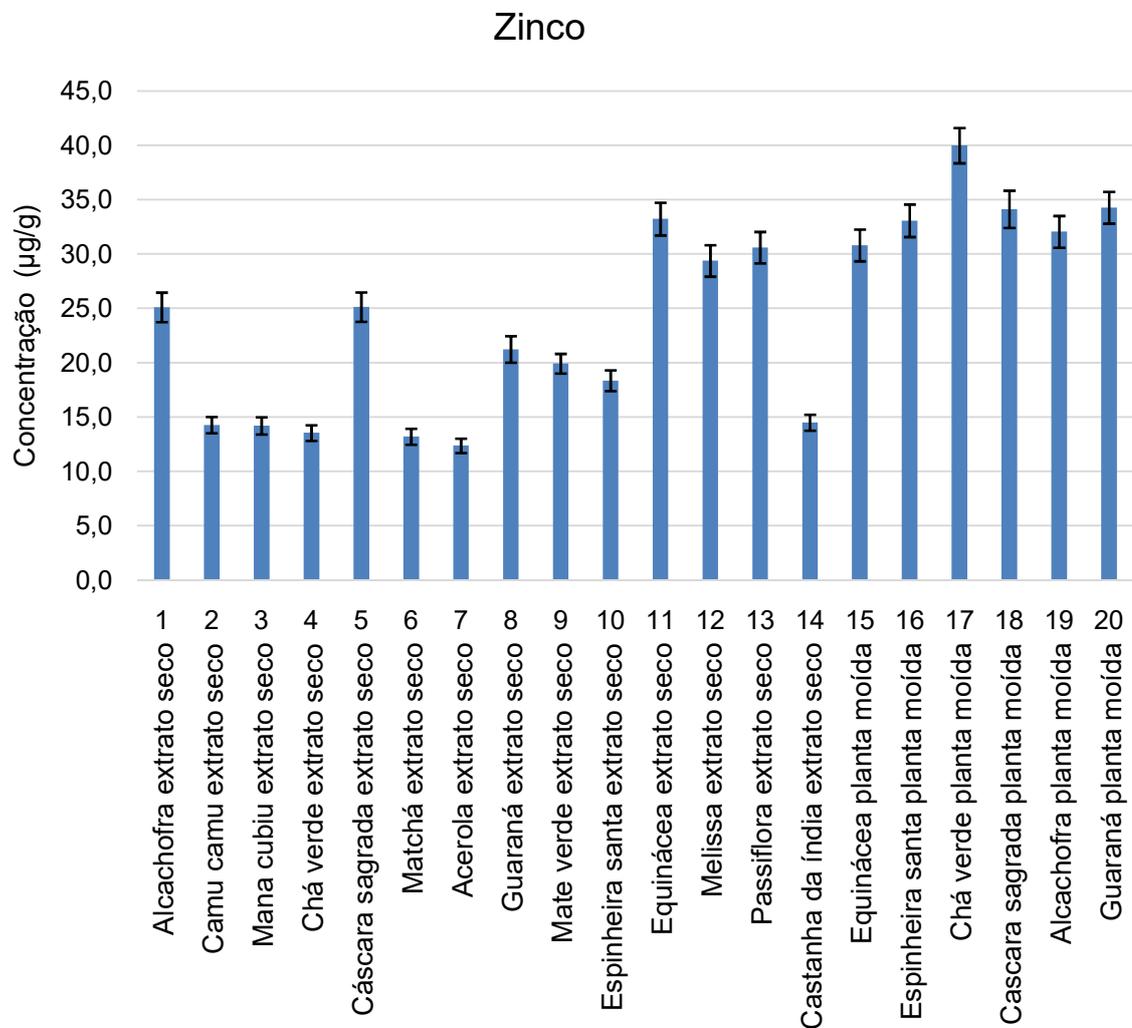
Fonte: Elaboração própria

5.1.6. Zinco

Mesmo que seja um mineral essencial, uma overdose de Zinco pode causar febre, náusea e fraqueza geral (NKANSAH et al., 2016). Não há LMP para o elemento Zinco nas monografias consultadas.

Observa-se na Figura 5.1.6.1 níveis maiores de Zinco nas amostras de Plantas Medicinais moídas do que nas amostras dos extratos secos das plantas medicinais, o que sugere que o processo de fabricação de extratos diminui a concentração deste elemento.

Figura 5.1.6.1– Concentração de Zinco nas amostras.



Fonte: Elaboração própria

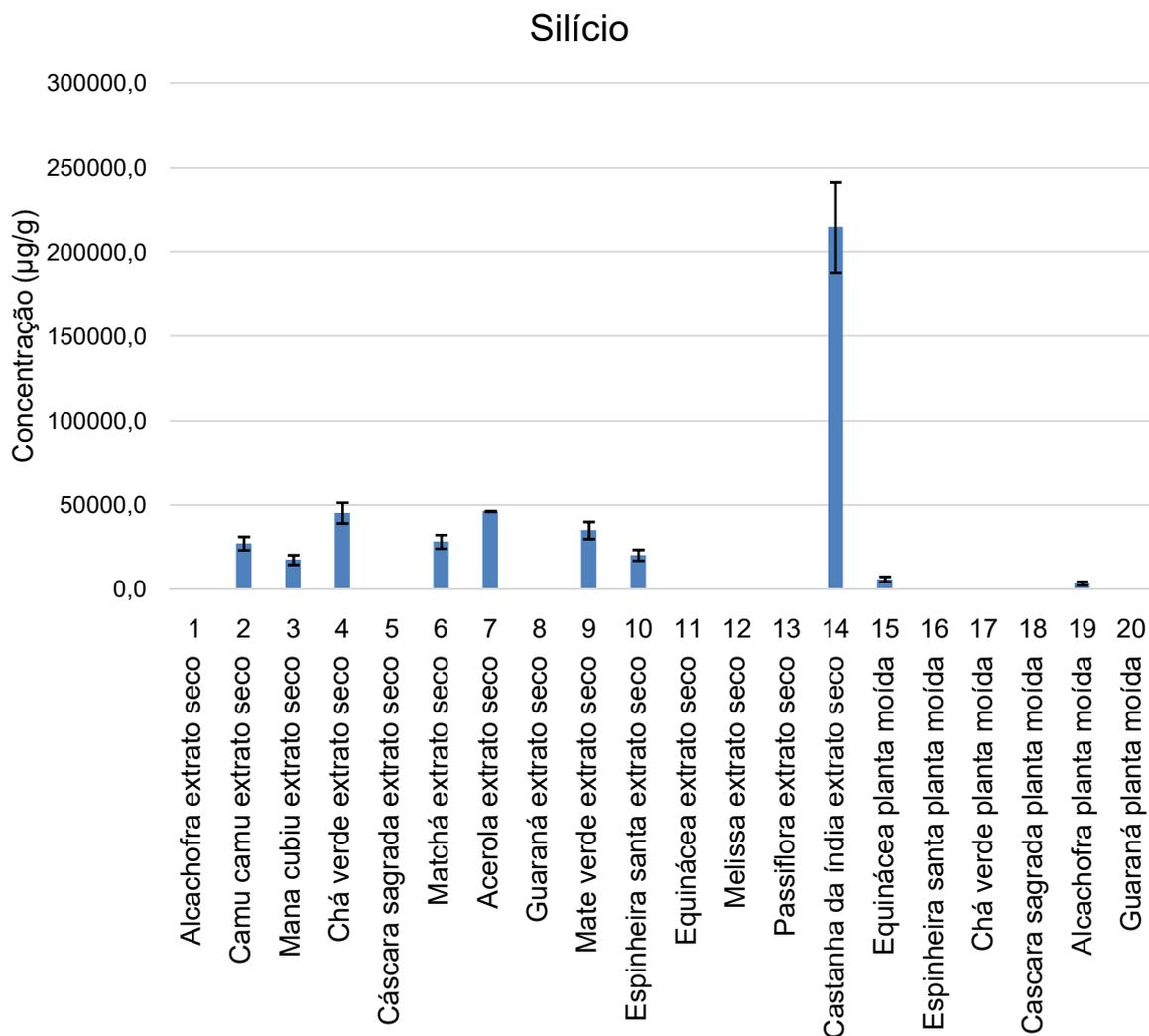
5.1.7. Silício

Não há LMP para o elemento Silício nas monografias consultadas.

Observa-se na Figura 5.1.7.1 níveis maiores de Silício nas amostras de extratos secos de plantas medicinais do que em relação às amostras de plantas medicinais moídas, o que sugere que no processo de fabricação a utilização de adjuvante contendo Silício. Analisando os adjuvantes utilizados no processo produtivo e a concentrações dos elementos químicos neles presentes (Tabela 5.1.3) verifica-se que em alguns extratos foi utilizado o adjuvante dióxido de silício, que de acordo com a Tabela 5.1.3 apresenta grande quantidade deste elemento.

Sabemos que no processo de produção dos extratos secos das plantas medicinais de nº 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10 e 14 foi utilizado o secante dióxido de silício, por isso este elemento aparece em maior proporção. Por outro lado, nos extratos de nº 1 e 11 não aparece o elemento silício, no entanto, as correspondentes plantas moídas (nº 19 e 15) tinham silício em concentrações de 3633.7 µg/g e 6089.2 µg/g, respectivamente, que desapareceu após a produção dos extratos secos (nº 1 e 11), indicando que o processo de produção pode retirar este elemento quando o mesmo não é adicionado propositalmente como secante.

Figura 5.1.7.1 – Concentração de Silício nas amostras.



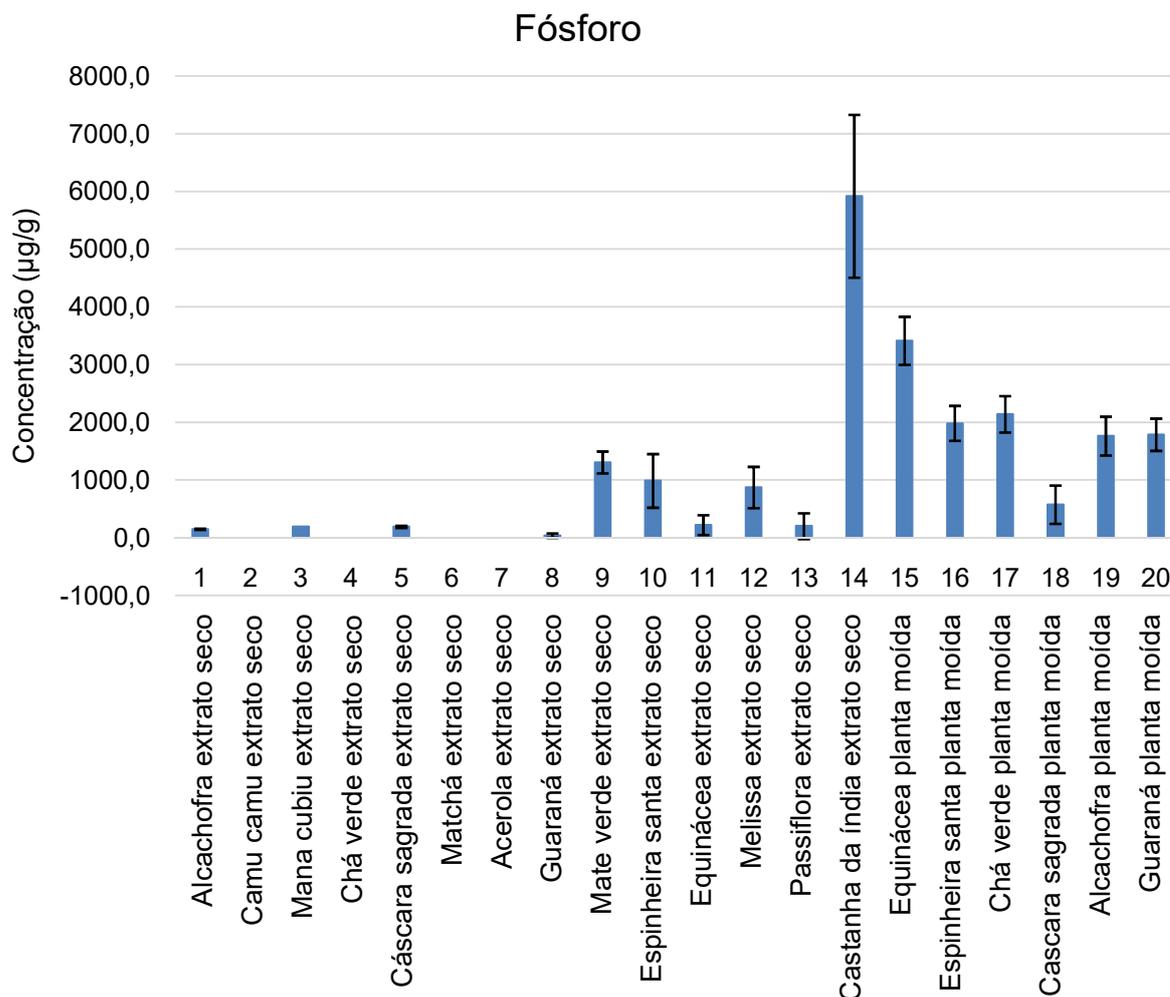
Fonte: Elaboração própria

5.1.8. Fósforo

Não há LMP para o elemento Fósforo nas monografias consultadas.

Observa-se na Figura 5.1.8.1 níveis maiores de Fósforo nas amostras de plantas medicinais moídas do que a encontrada nos extratos secos das plantas medicinais, o que sugere que o processo de fabricação dos extratos diminui a concentração deste elemento, chegando a eliminá-lo totalmente em alguns casos.

Figura 5.1.8.1 – Concentração de Fósforo nas amostras.



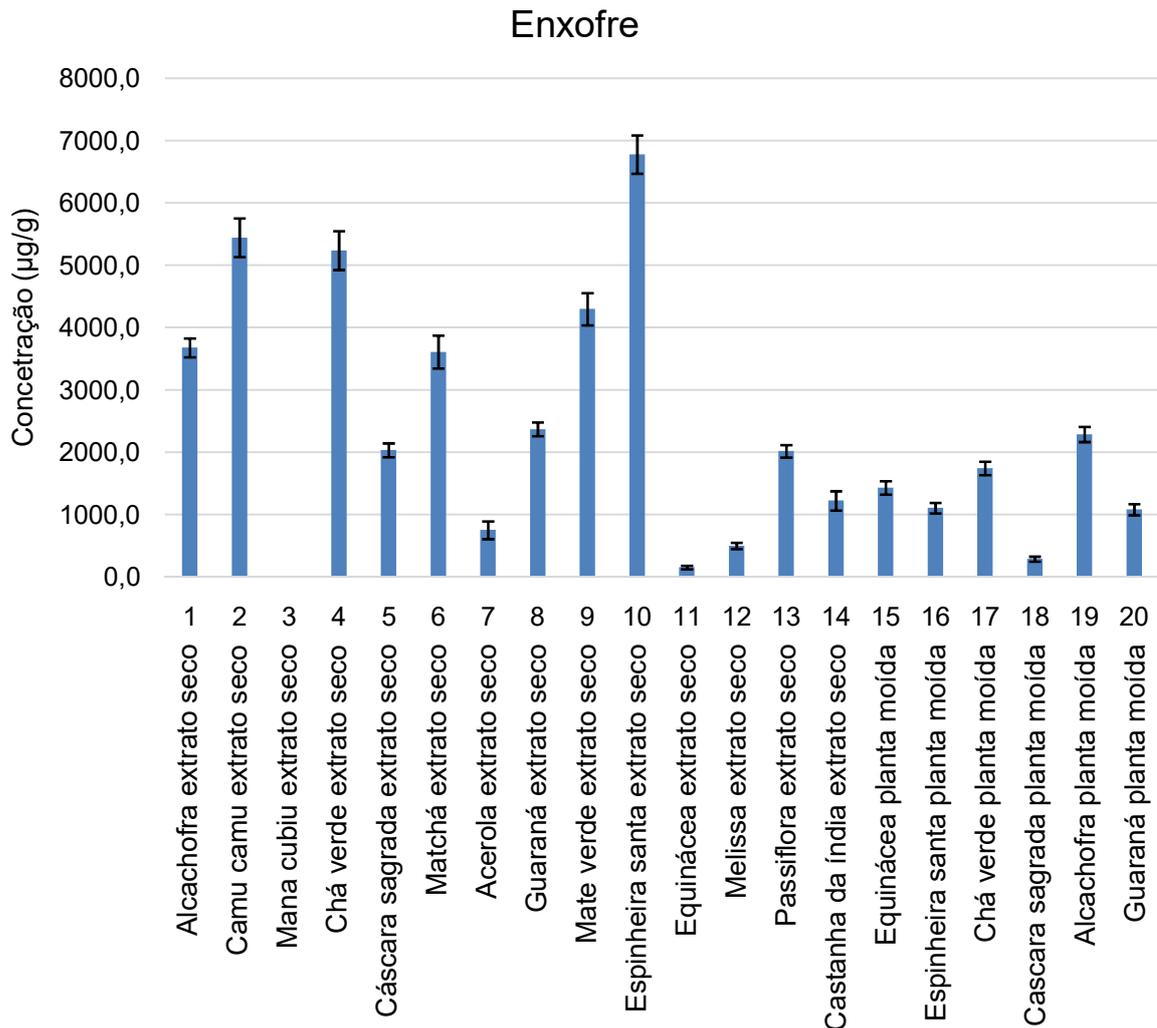
Fonte: Elaboração própria

5.1.9. Enxofre

Não há LMP para o elemento Enxofre nas monografias consultadas.

Observa-se na Figura 5.1.9.1 níveis maiores de Enxofre nas amostras dos extratos secos das plantas medicinais em relação às amostras de plantas medicinais moídas, sugerindo que o processo de fabricação de extratos promove o aumento da concentração deste elemento, exceto no caso das amostras 15 e 11 onde podemos ver a diminuição da concentração de Enxofre, o que sugere que na fabricação do extrato seco de equinácea (nº 11) pode existir alguma etapa não realizada na fabricação dos demais extratos.

Figura 5.1.9.1 – Concentração de Enxofre nas amostras.



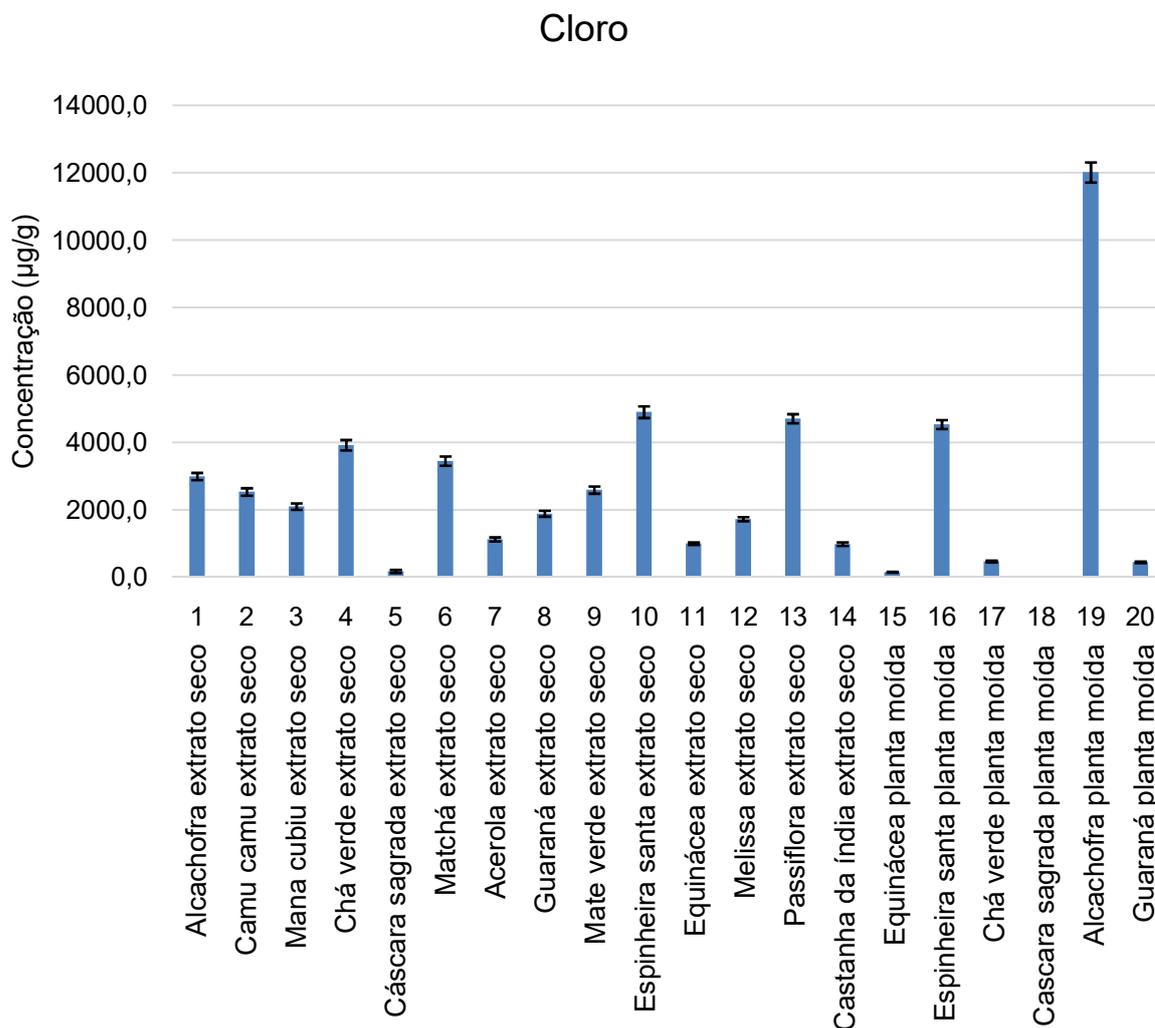
Fonte: Elaboração própria

5.1.10. Cloro

Não há LMP para o elemento Cloro nas monografias consultadas.

Observa-se na Figura 5.1.10.1 um pequeno aumento nas concentrações de Cloro nas amostras dos extratos secos das plantas medicinais quando comparado com as plantas moídas. Isso pode ser proveniente da água usada na extração dos extratos.

Figura 5.1.10.1 – Concentração de Cloro nas amostras.



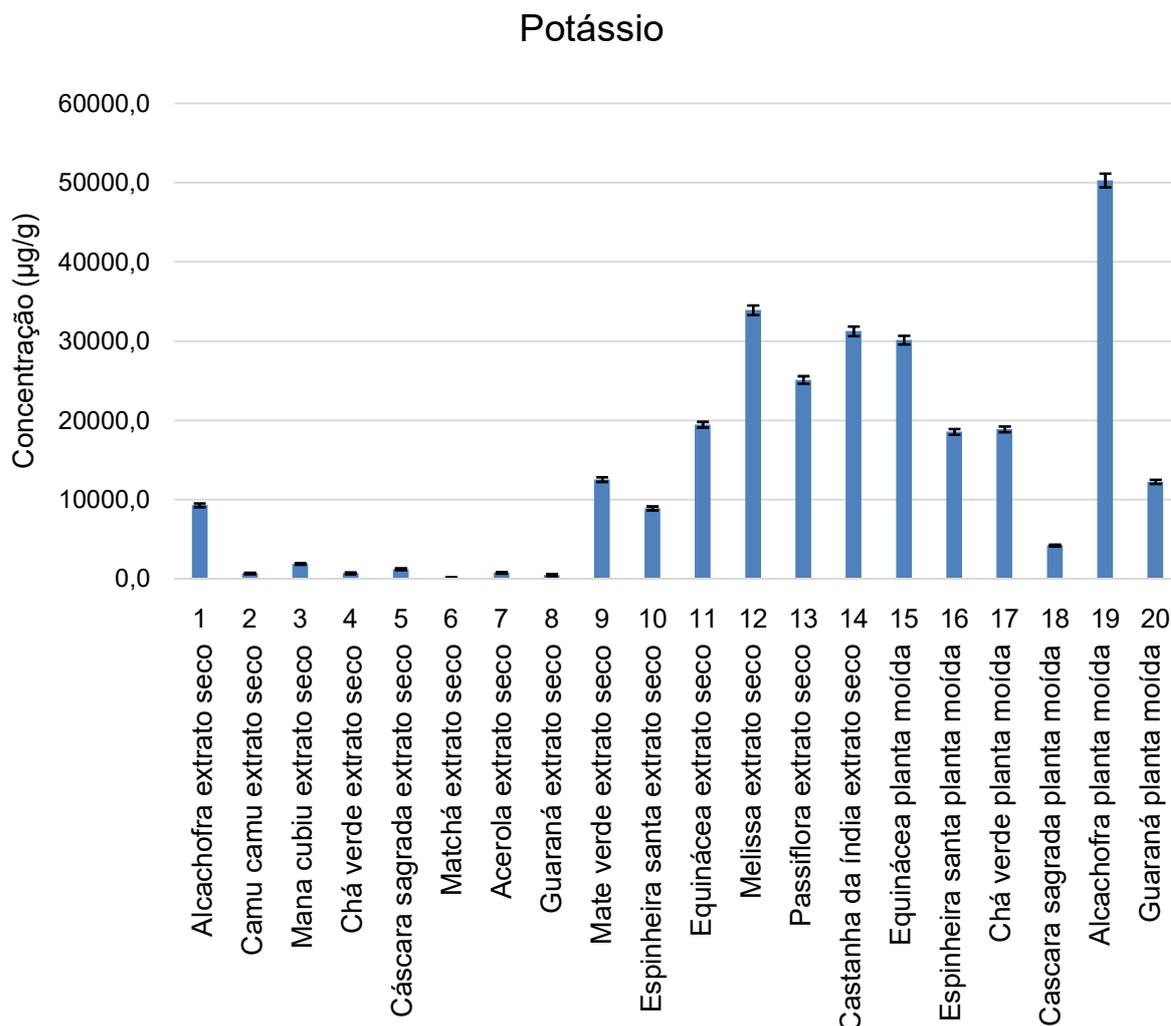
Fonte: Elaboração própria

5.1.11. Potássio

Não há LMP para o elemento Potássio nas monografias consultadas.

Observa-se na Figura 5.1.11.1 que todas as plantas moídas têm níveis muito altos de Potássio e houve uma grande redução neste elemento nos extratos secos, indicando novamente que o processo produtivo não é eficiente na extração deste elemento.

Figura 5.1.11.1 – Concentração de Potássio nas amostras.



Fonte: Elaboração própria

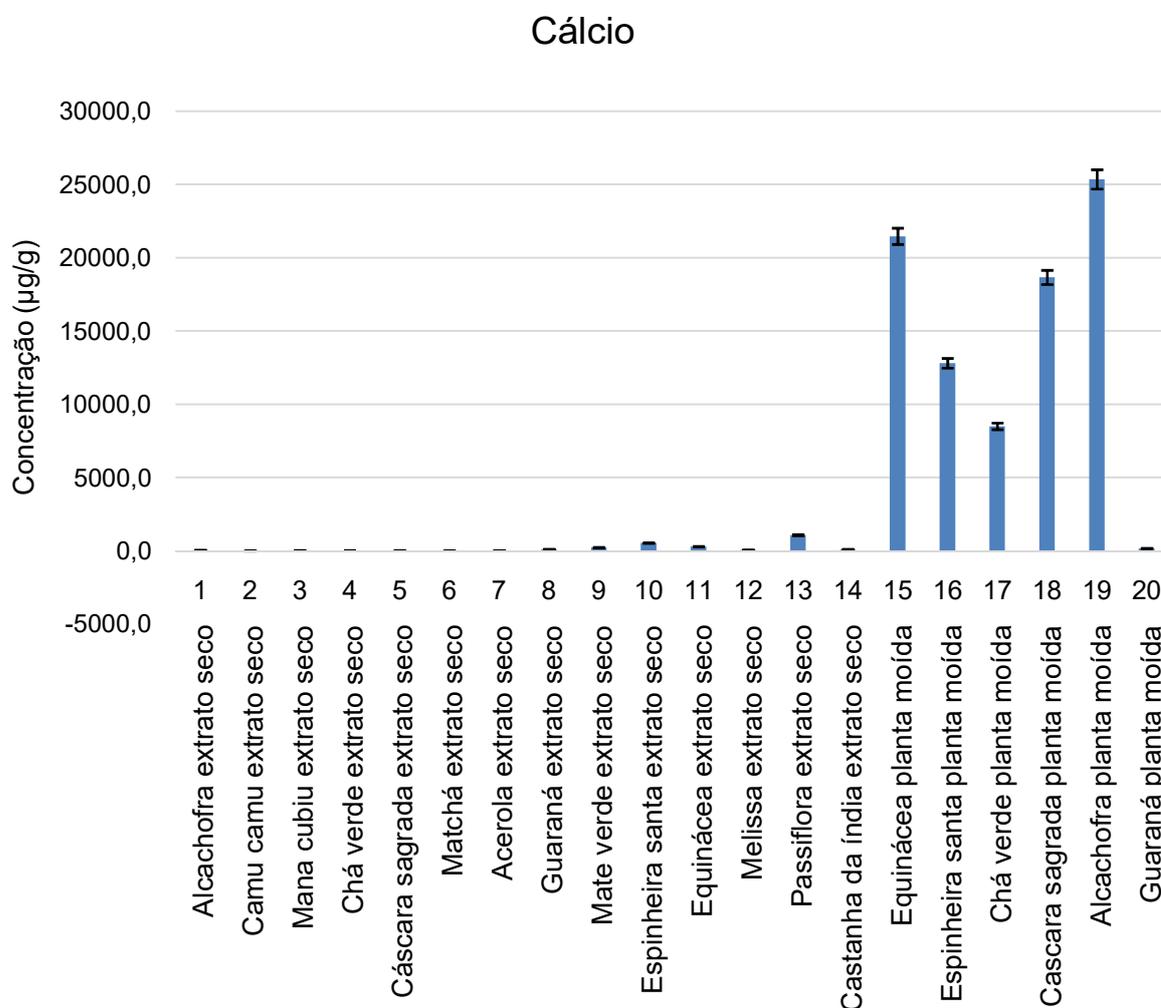
5.1.12. Cálcio

Não há LMP para o elemento Cálcio nas monografias consultadas. Altas concentrações de Cálcio não são prejudiciais ao organismo, porque o Cálcio é conhecido por melhorar as qualidades dos ossos e dentes e também dos sistemas neuromuscular sistêmico e funções cardíacas (OBIAJUNWA; ADEBAJO; OMOBUWAJO, 2002).

Observa-se na Figura 5.1.12.1 que todas as plantas medicinais moídas possuem alta concentração de Cálcio, com exceção da planta número 20 (Guarána) que não tem concentração significativa. Porém, todo este Cálcio ou não consegue

ser extraído no processo de produção dos extratos ou se perde no processo, indicando que o processo não é bom para a extração do elemento Cálcio.

Figura 5.1.12.1 – Concentração de Cálcio nas amostras.



Fonte: Elaboração própria

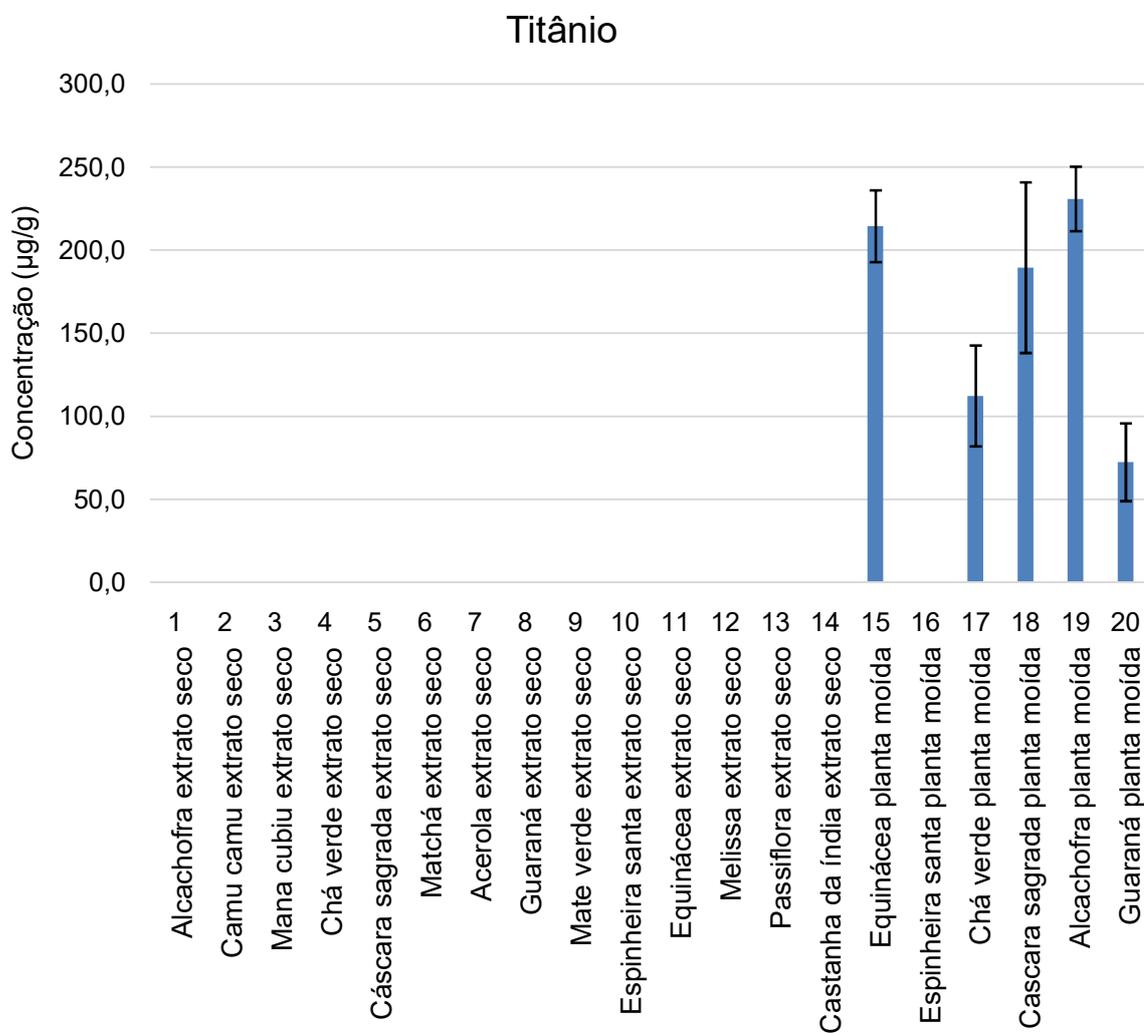
5.1.13. Titânio

Não há LMP para o elemento Titânio nas monografias consultadas.

Observa-se na Figura 5.1.13.1 que todas as plantas medicinais moídas possuem alta concentração de Titânio, com exceção da planta número 16 (Espinheira Santa) que não apresenta Titânio. O Titânio é um elemento presente no solo (RIBEIRO MSS, 2011), portanto, é natural que os vegetais o incorpore durante o processo de fotossíntese. Ocorre que conforme mostra a Figura 5.1.13.1 o Titânio

não aparece nos extratos secos das plantas medicinais, indicando novamente que o processo não consegue extraí-lo.

Figura 5.1.13.1 – Concentração de Titânio nas amostras.



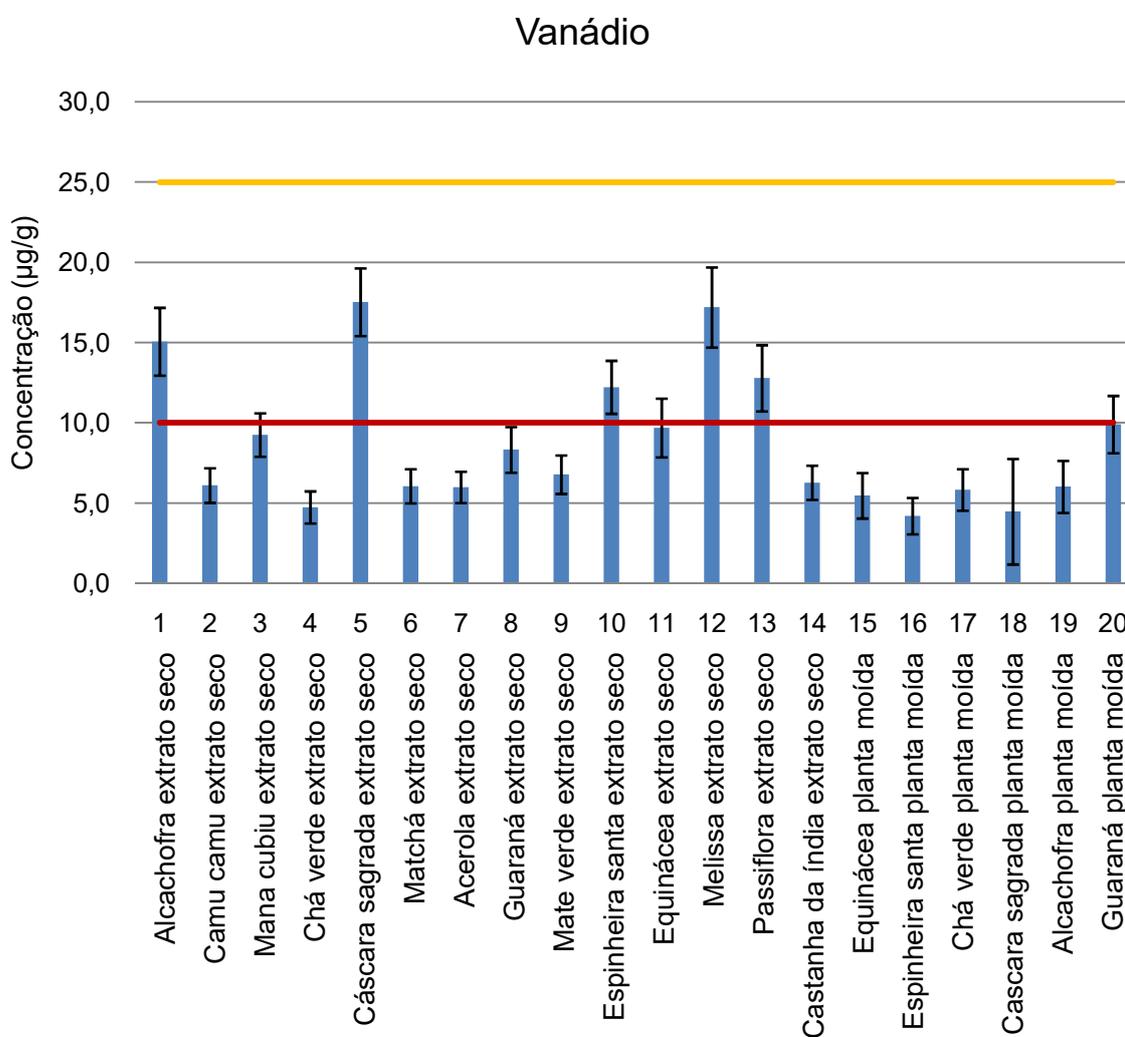
Fonte: Elaboração própria

5.1.14. Vanádio

O Vanádio já foi sugerido para ser utilizado no tratamento de câncer (OBIAJUNWA; ADEBAJO; OMOBUWAJO, 2002). O LMP para o elemento Vanádio de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) é de 25 µg/g e de acordo com a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 10 µg/g, ambos indicados no gráfico da Figura 5.1.14.1 como linhas amarela e vermelha, respectivamente.

Observa-se na Figura 5.1.14.1 que as concentrações de todas as amostras estão dentro do LMP pela Farmacopeia Brasileira e as amostras nº 1, 5, 10, 12 e 13 dos extratos estão um pouco acima do LMP pela Farmacopeia Americana. Todos os adjuvantes mostrados na Tabela (5.1.3) apresentam Vanádio em concentrações na mesma ordem de grandeza dos obtidos nos extratos secos, sendo assim, o aumento do elemento Vanádio nos extratos secos, quando comparado com as plantas moídas, pode ser explicado como sendo proveniente dos adjuvantes (Maltodextrina, Amido, Dióxido de Silício e Corante Caramelo) usados no processo de produção.

Figura 5.1.14.1 – Concentração de Vanádio nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Vanádio.



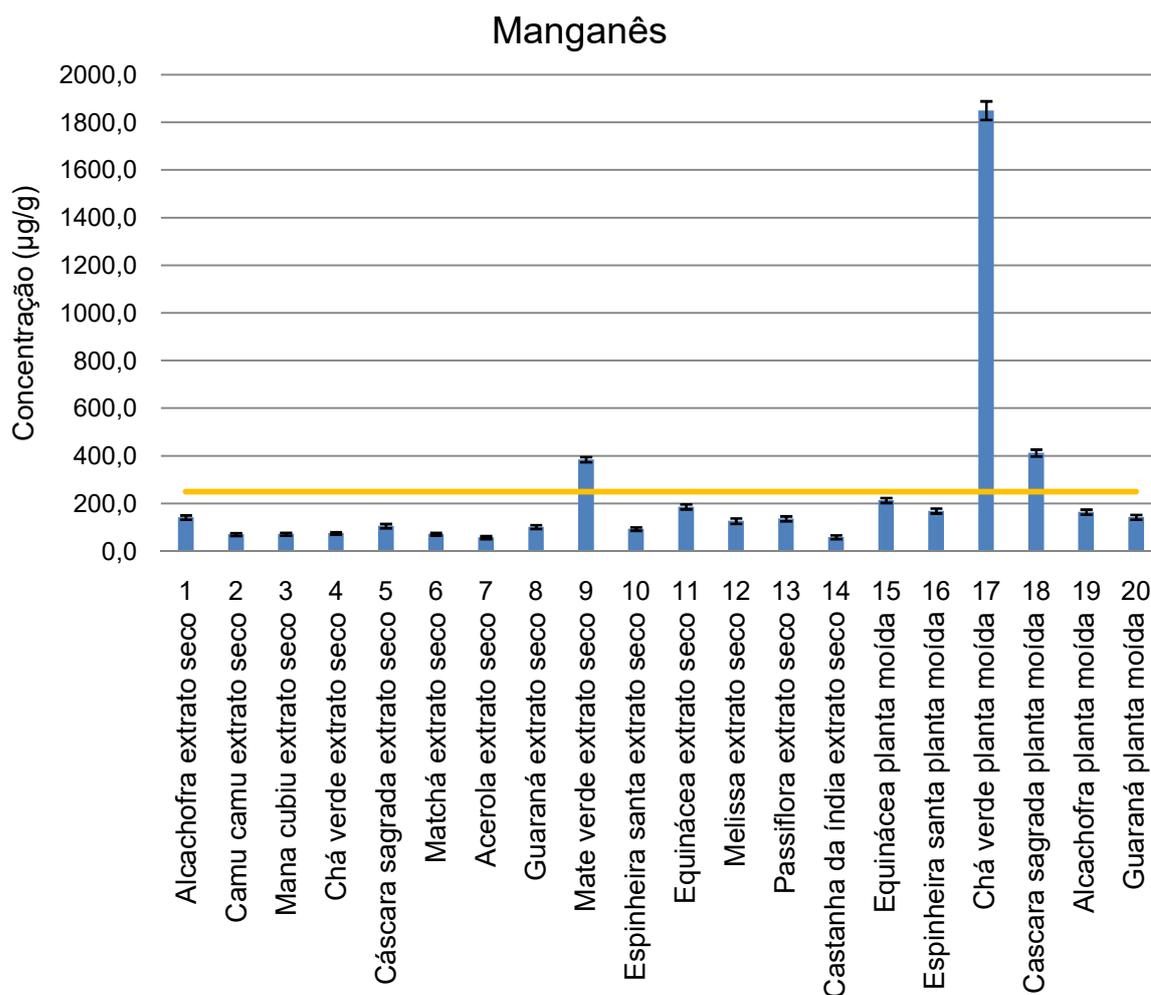
Fonte: Elaboração própria

5.1.15. Manganês

O LMP para o elemento Manganês de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) é de 250 µg/g, indicado no gráfico da Figura 5.1.15.1 como linha amarela.

Observa-se na Figura 5.1.15.1 que as concentrações das amostras 9, 17 e 18 estão acima do LMP pela Farmacopeia Brasileira. As demais amostras atendem as especificações de LMP e as concentrações dos extratos secos de plantas medicinais estão menores que as concentrações de plantas medicinais moídas, o que sugere que o processo produtivo dos extratos diminui a concentração deste elemento ou simplesmente não consegue extraí-lo.

Figura 5.1.15.1 – Concentração de Manganês nas amostras. A linha amarela representa o LMP estabelecido pela Farmacopeia Brasileira para o elemento Manganês.



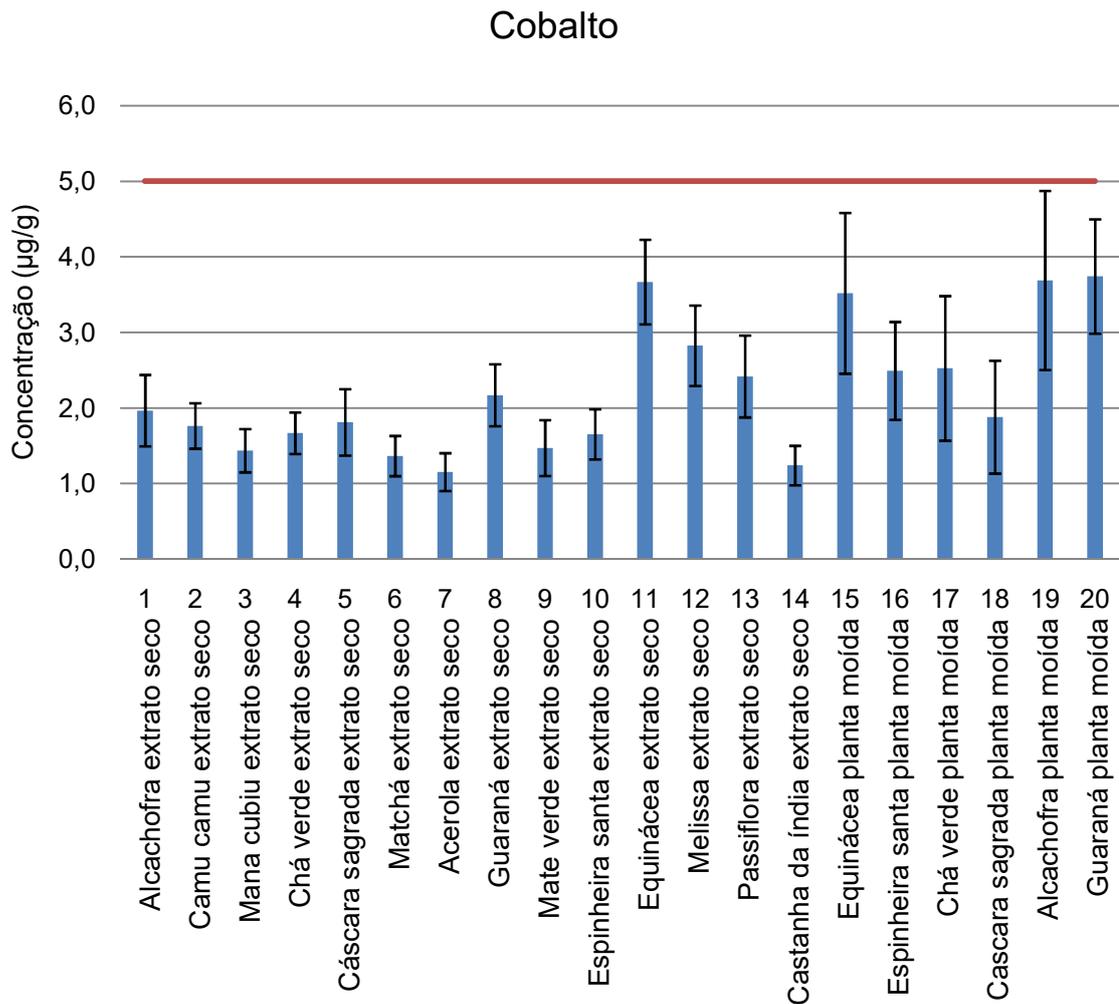
Fonte: Elaboração própria

5.1.16. Cobalto

O LMP para o elemento Cobalto de acordo com a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 5 µg/g. indicado no gráfico da Figura 5.1.16.1 como linha vermelha.

Observa-se na Figura 5.1.16.1 que as concentrações de todas as amostras de extratos secos e plantas moídas atendem as especificações de LMP. O processo de produção também reduz, ou seja, não consegue extrair o elemento de forma eficiente diminuindo sua concentração nos extratos quando comparado com as plantas moídas. Os adjuvantes usados também apresentam contaminação por Cobalto.

Figura 5.1.16.1 – Concentração de Cobalto nas amostras. A linha vermelha representa o LMP estabelecido pela Farmacopeia Americana para o elemento Cobalto.



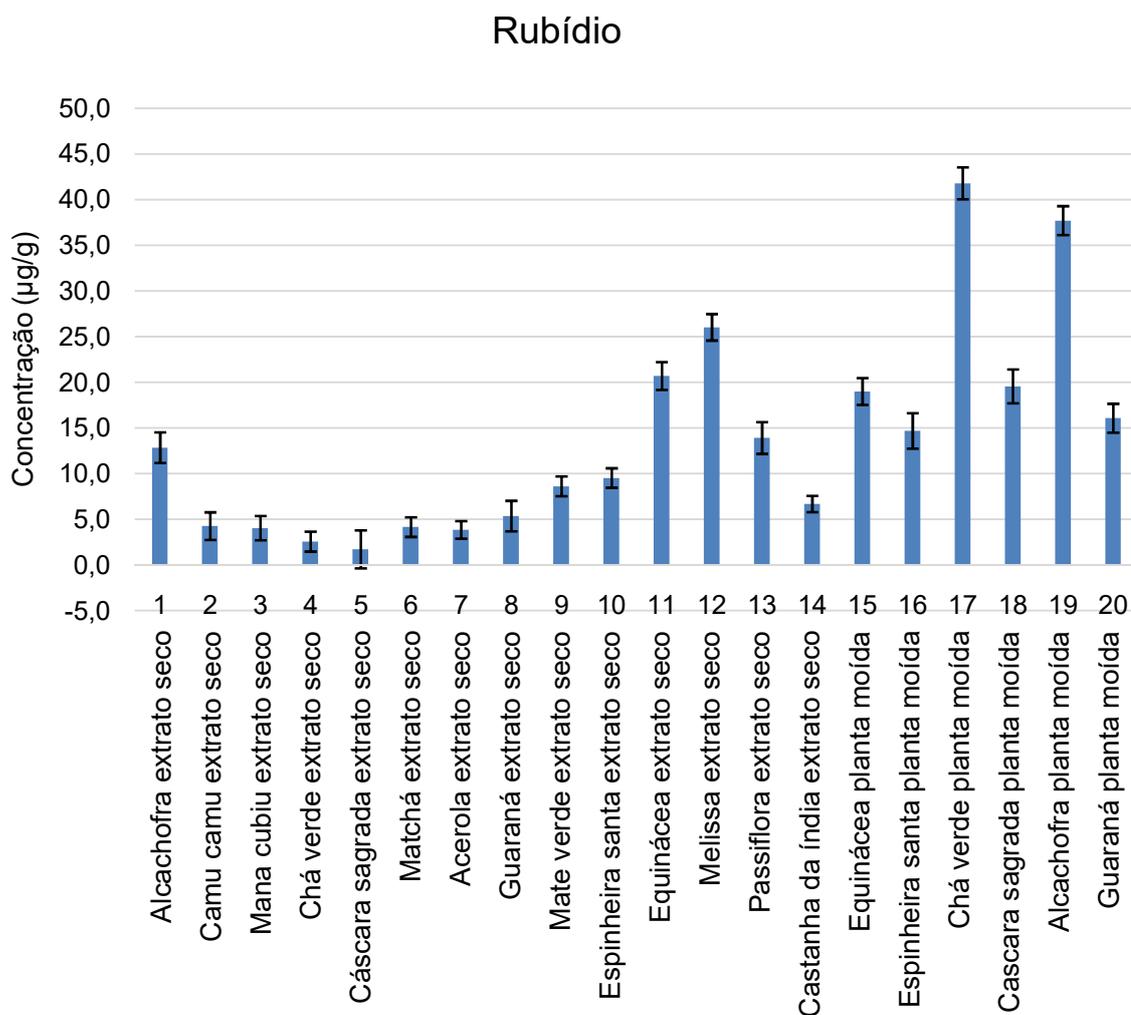
Fonte: Elaboração própria

5.1.17. Rubídio

Não há LMP para o elemento Rubídio nas monografias consultadas. O Rubídio é um elemento químico presente no solo (IVANOVA; DJINGOVA; KULEFF, 1998; PÉREZ et al., 1997) que pode ser incorporado pelas plantas durante o processo de fotossíntese.

Observa-se na Figura 5.1.17.1 que houve diminuição nas concentrações de Rubídio das amostras de extratos seco sem relação às amostras de plantas medicinais moídas, o que sugere novamente que o processo de fabricação dos extratos tem baixa eficiência na extração deste elemento.

Figura 5.1.17.1 – Concentração de Rubídio nas amostras.



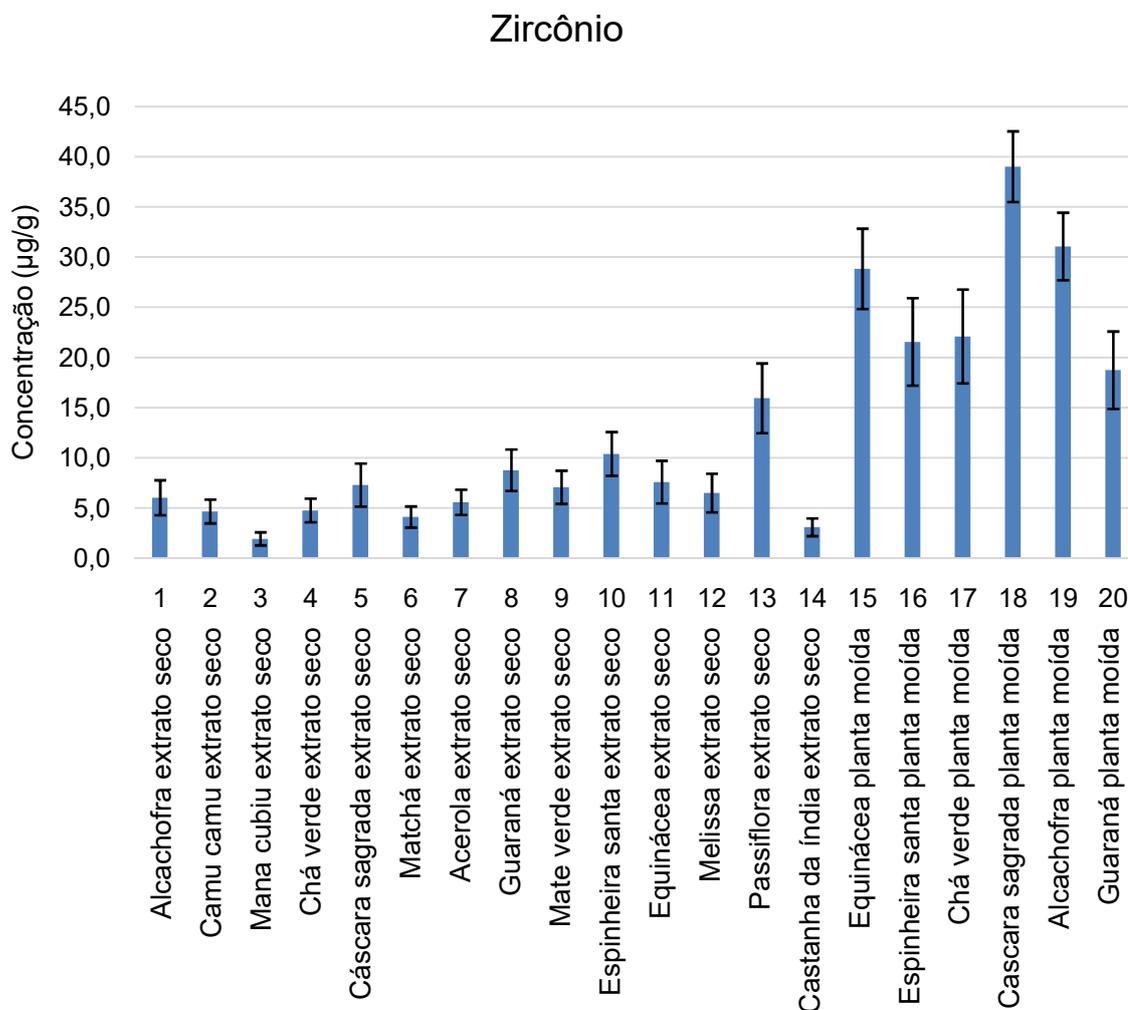
Fonte: Elaboração própria

5.1.18. Zircônio

Não há LMP para o elemento Zircônio nas monografias consultadas. O Zircônio também é um elemento químico presente no solo (IVANOVA; DJINGOVA; KULEFF, 1998; PÉREZ et al., 1997), que pode ser incorporado pelas plantas durante o processo de fotossíntese.

Observa-se na Figura 5.1.18.1 que houve diminuição nas concentrações de Zircônio das amostras de extratos secos quando comparadas as plantas moídas, indicando novamente a baixa eficiência para a extração deste elemento.

Figura 5.1.18.1 – Concentração de Zircônio nas amostras.



Fonte: Elaboração própria

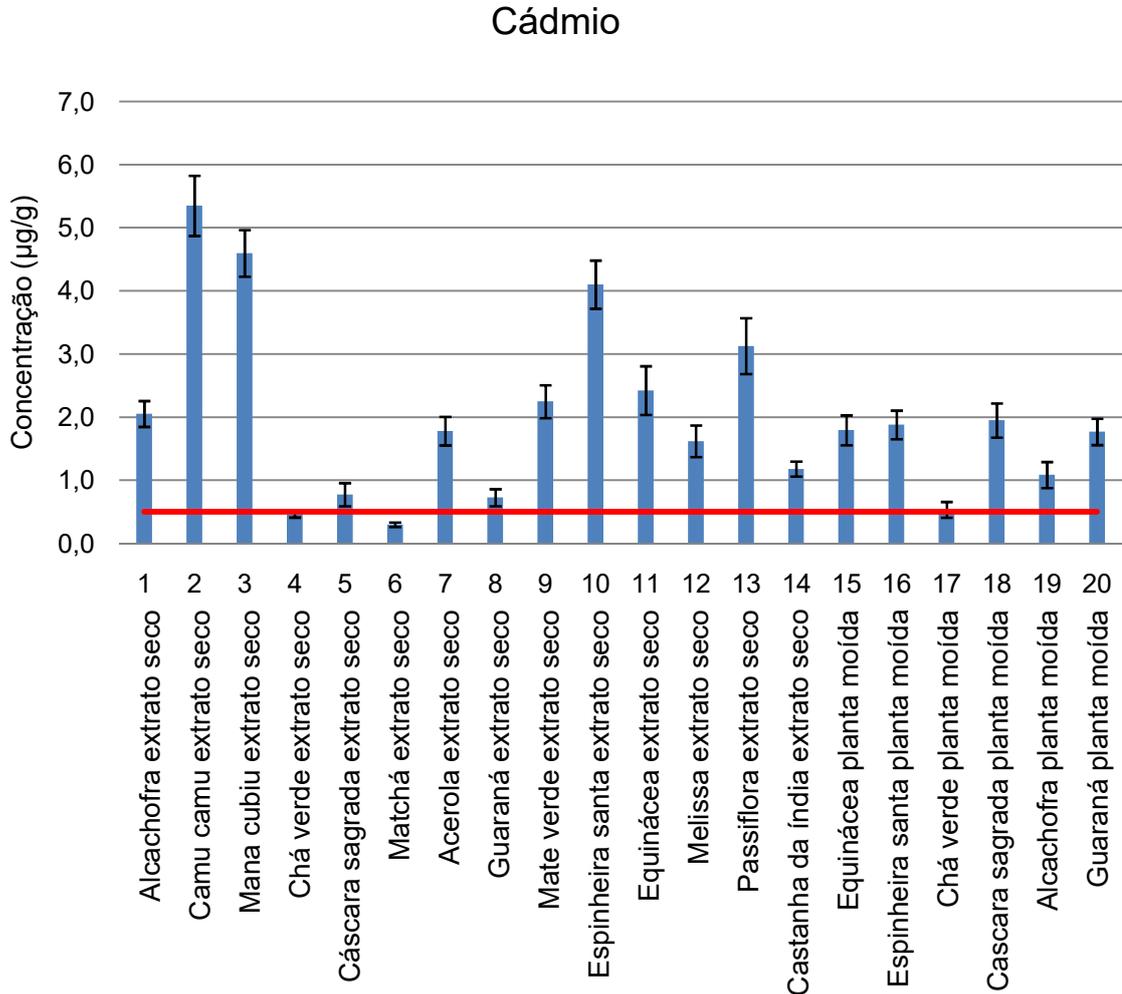
5.1.19. Cádmio

O envenenamento por Cádmio está associado a uma série de distúrbios, falhas renais e problemas cardiovasculares (NKANSAH et al., 2016). O consumo de Cádmio pode causar mineralização óssea através de lesão óssea ou por disfunção renal (JAISHANKAR et al., 2014). Exposição a baixas concentrações de Cádmio, por longos períodos, ocorre a sua deposição nos rins levando à doença renal, ossos frágeis e danos aos pulmões (BERNARD, 2008).

O LMP para o elemento Cádmio de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) e a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 0.5 µg/g, indicado no gráfico da Figura 5.1.19.1 como linha vermelha.

Observa-se na Figura 5.1.19.1 que as concentrações de Cádmio para todas as amostras estão fora do LMP para ambas as Farmacopeias, com exceção das amostras nº 4, 5, 6, 8, e 17 que se considerado os erros experimentais estariam no limite permissível. Todos os adjuvantes apresentaram concentrações de Cádmio acima dos LMPs, sendo que para a Maltodextrina e Corante Caramelo os valores das concentrações superam muito o LMP, sendo 18.2 µg/g para a Maltodextrina e 66.2 µg/g para o Corante Caramelo. As concentrações mais altas deste elemento aparecem nos extratos, sendo uma clara indicação que o mesmo deve vir dos adjuvantes usados no processo de fabricação.

Figura 5.1.19.1 – Concentração de Cádmiu nas amostras. A linha vermelha representa os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana para o elemento Cádmiu.



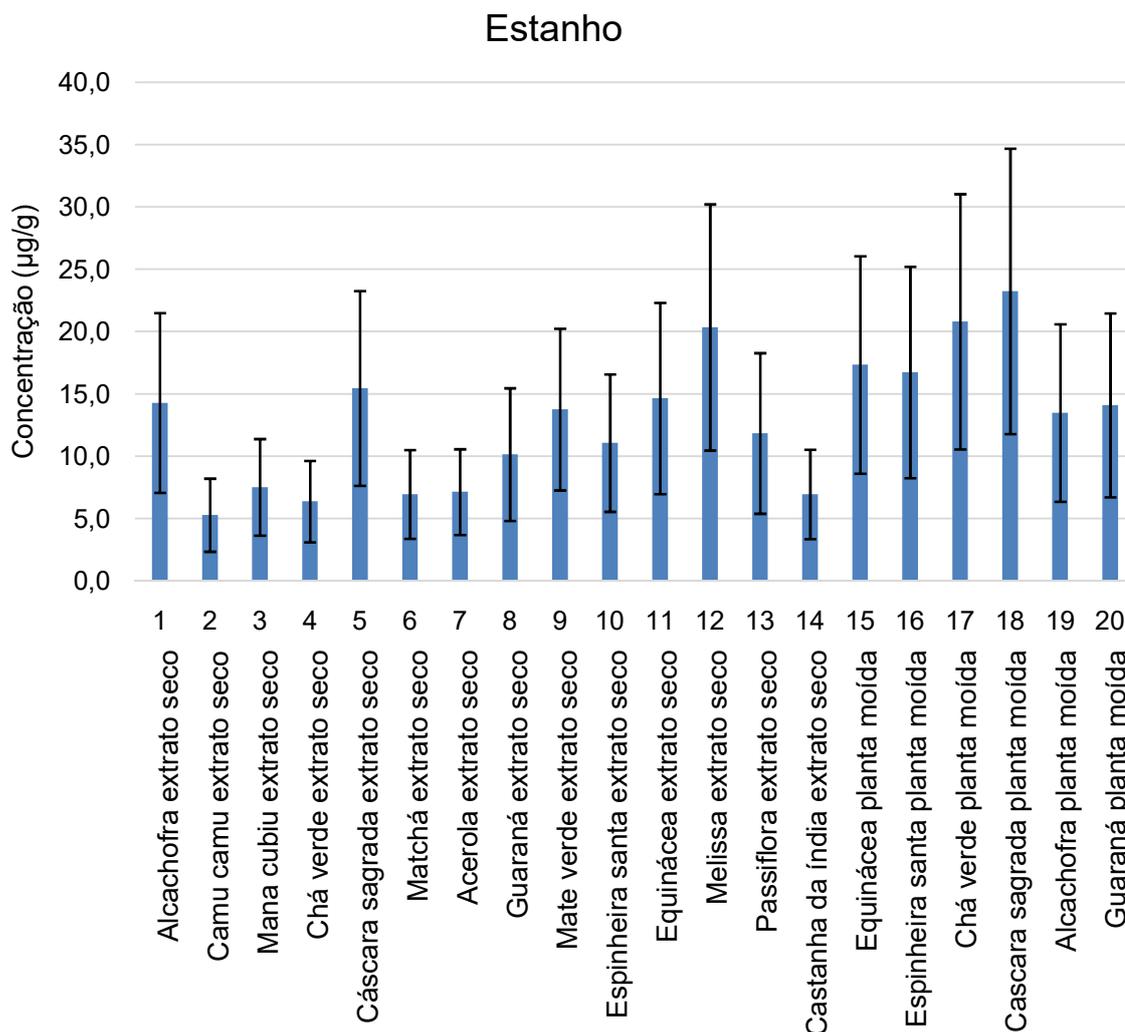
Fonte: Elaboração própria

5.1.20. Estanho

O LMP para o elemento Estanho de acordo com a Farmacopeia Americana é de (Tabela 5.1.5) é de 600 µg/g, trata-se de um LMP alto.

Observa-se na Figura 5.1.20.1 que todas as amostras estão de acordo com o LMP. Houve diminuição das concentrações de Estanho nas amostras dos extratos secos das plantas medicinais quando comparadas com as plantas moídas, indicando novamente a baixa eficiência para extrair este elemento.

Figura 5.1.20.1 – Concentração de Estanho nas amostras.



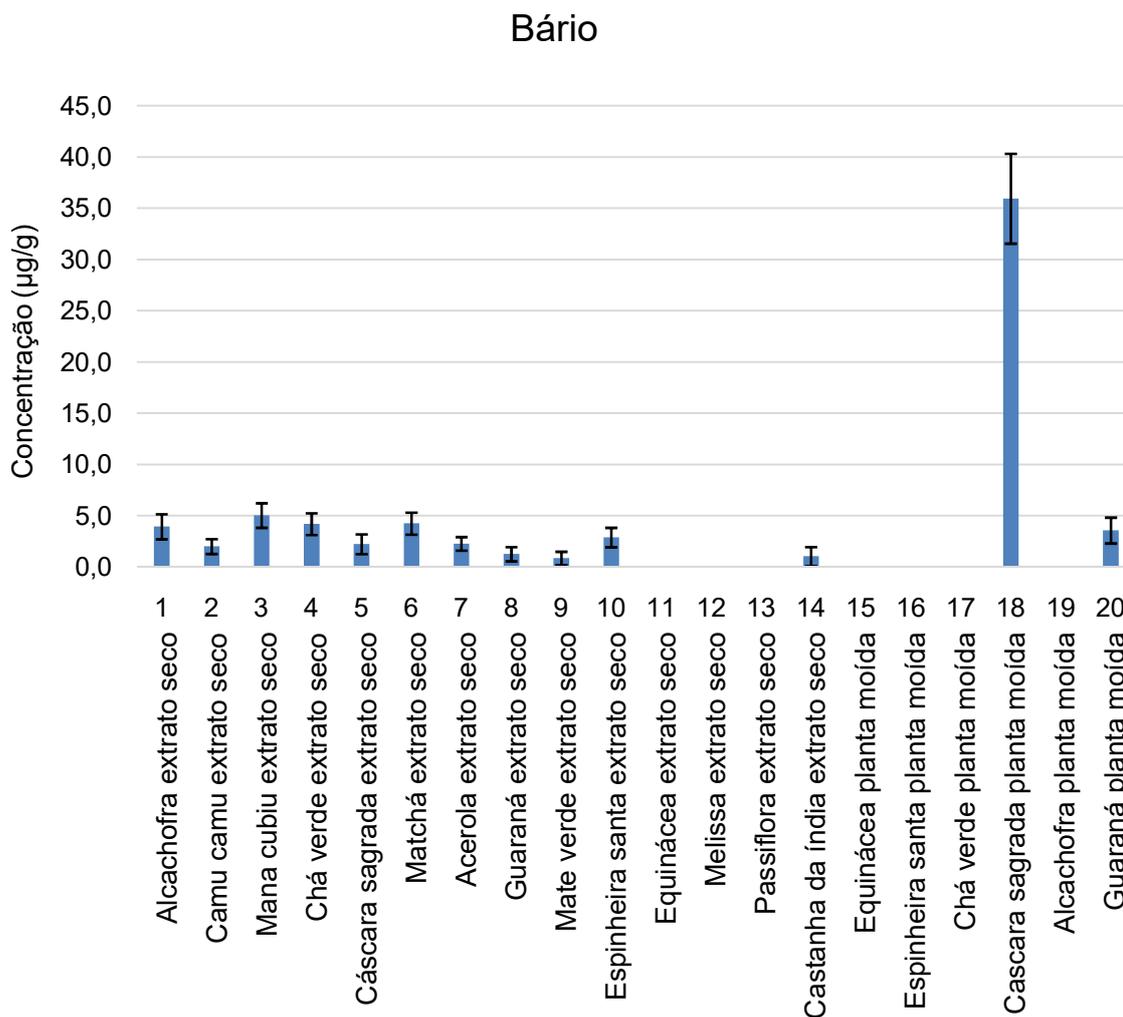
Fonte: Elaboração própria

5.1.21. Bário

O LMP para o elemento Bário de acordo com a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 140 µg/g trata-se de um LMP alto.

Observa-se na Figura 5.1.21.1 que as concentrações de todas as amostras analisadas estão dentro do LMP para o elemento Bário. Houve aumento nas concentrações de Bário nas amostras dos extratos secos, quando comparadas com as das plantas moídas, com exceção da amostra de planta moída nº 18 (Cascara Sagrada) que apresentou um valor mais alto de 35.9 µg/g para este elemento. O Bário também aparece nos adjuvantes usados no processo de fabricação.

Figura 5.1.21.1 – Concentração de Bário nas amostras.



Fonte: Elaboração própria

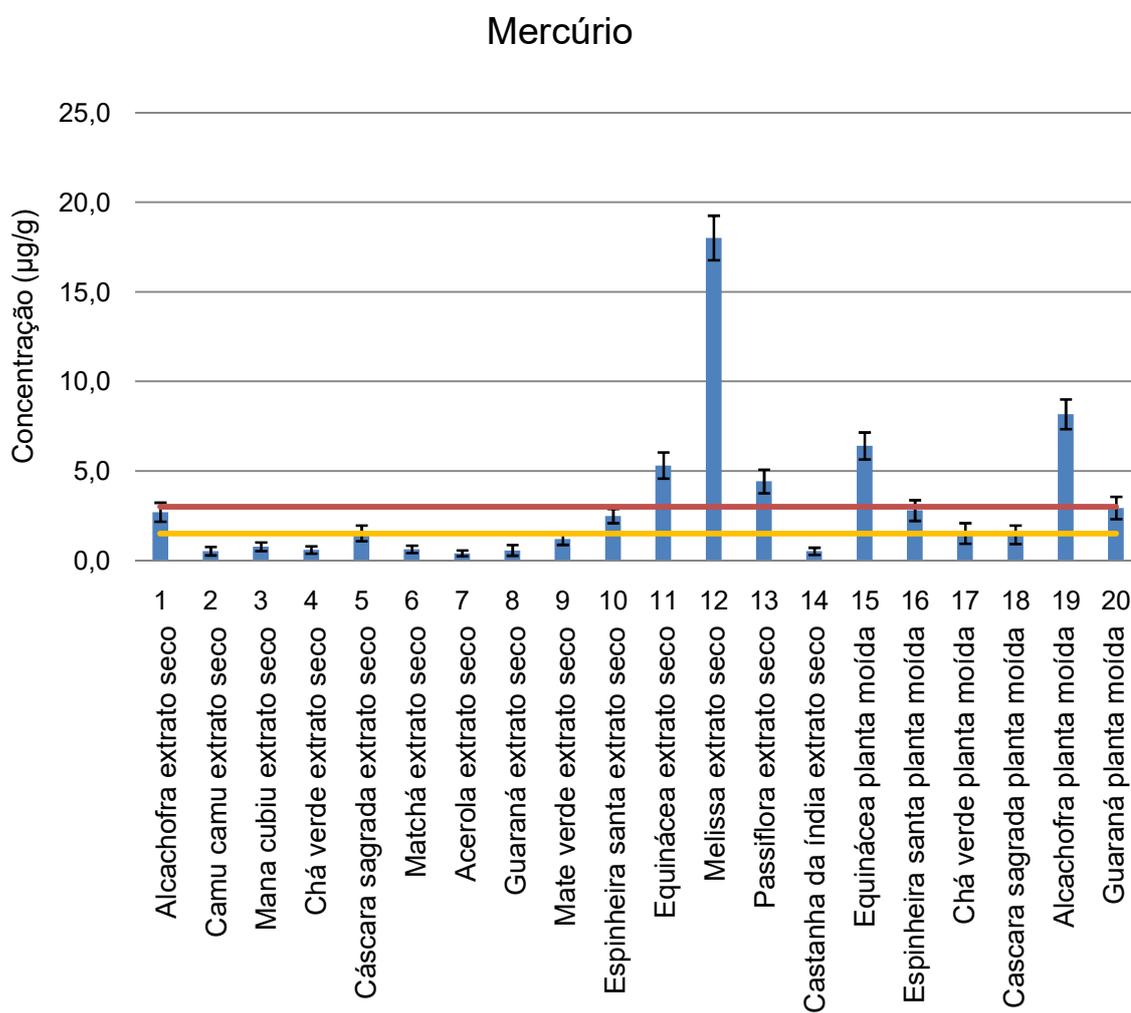
5.1.22. Mercúrio

A exposição ao elemento Mercúrio orgânico e/ou inorgânico pode danificar o cérebro, rins e o feto em desenvolvimento (ALINA et al., 2012). Exposição a altas doses de mercúrio pode alterar as funções cerebrais e levar à tremores, problemas de memória, irritabilidade e alterações na visão e audição (JAISHANKAR et al., 2014).

O LMP para o elemento Mercúrio de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) é de 1,5 µg/g e para a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 3 µg/g, ambos indicados no gráfico da Figura 5.1.22.1 como linhas amarela e vermelha, respectivamente.

Observa-se na Figura 5.1.22.1 que as concentrações das amostras de nº 01, 05, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 19 e 20 estão fora dos LMPs pela Farmacopeia Brasileira e as amostras de nº 11, 12, 13, 15 e 19 estão fora dos LMPs pela Farmacopeia Americana. Se compararmos os pares de plantas moídas (nº15, 16, 17, 18,19 e 20) com seu respectivo extrato seco (nº 11, 10, 4, 5, 1 e 8) verificamos para os pares 19 e 1; 20 e 8; 16 e 10; 15 e 11 uma diminuição significativa das concentrações de Mercúrio após o processo produtivo, indicando novamente que o processo de produção dos extratos tem baixa eficiência para a extração da maioria dos elementos químicos, inclusive os nocivos a saúde, o que é bom neste caso, por ser o Mercúrio um metal pesado altamente tóxico. No caso das amostras 5, 12 e 13 podemos sugerir que o aumento das concentrações de Mercúrio é proveniente da adição de adjuvantes e excipientes no processo produtivo dos extratos, pois de acordo com a Tabela 5.1.3, todos os adjuvantes apresentam contaminação por Mercúrio. A amostra de nº 12 (Melissa) apresentou níveis muito elevados de Mercúrio de 18 µg/g e mesmo sabendo que na produção deste extrato seco foi usado amido de milho que apresenta o contaminante Mercúrio, não conseguimos explicar este nível tão alto de contaminação.

Figura 5.1.22.1 – Concentração de Mercúrio nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Mercúrio.



Fonte: Elaboração própria

5.1.23. Chumbo

O chumbo é um metal altamente tóxico cuja utilização generalizada causou extensa contaminação ambiental e problemas de saúde em muitas partes do mundo (JAISHANKAR et al., 2014). O Chumbo ingerido além de certo limiar pode aumentar a pressão arterial acompanhada de efeitos debilitantes para órgãos-chave como o rim e o cérebro (NKANSAH et al., 2016). A exposição aguda pode causar perda de apetite, dor de cabeça, hipertensão, dor abdominal, disfunção renal, fadiga, insônia, artrite, alucinações e vertigem (JAISHANKAR et al., 2014). A exposição crônica de chumbo pode resultar em retardo mental, defeitos congênitos, psicose, autismo,

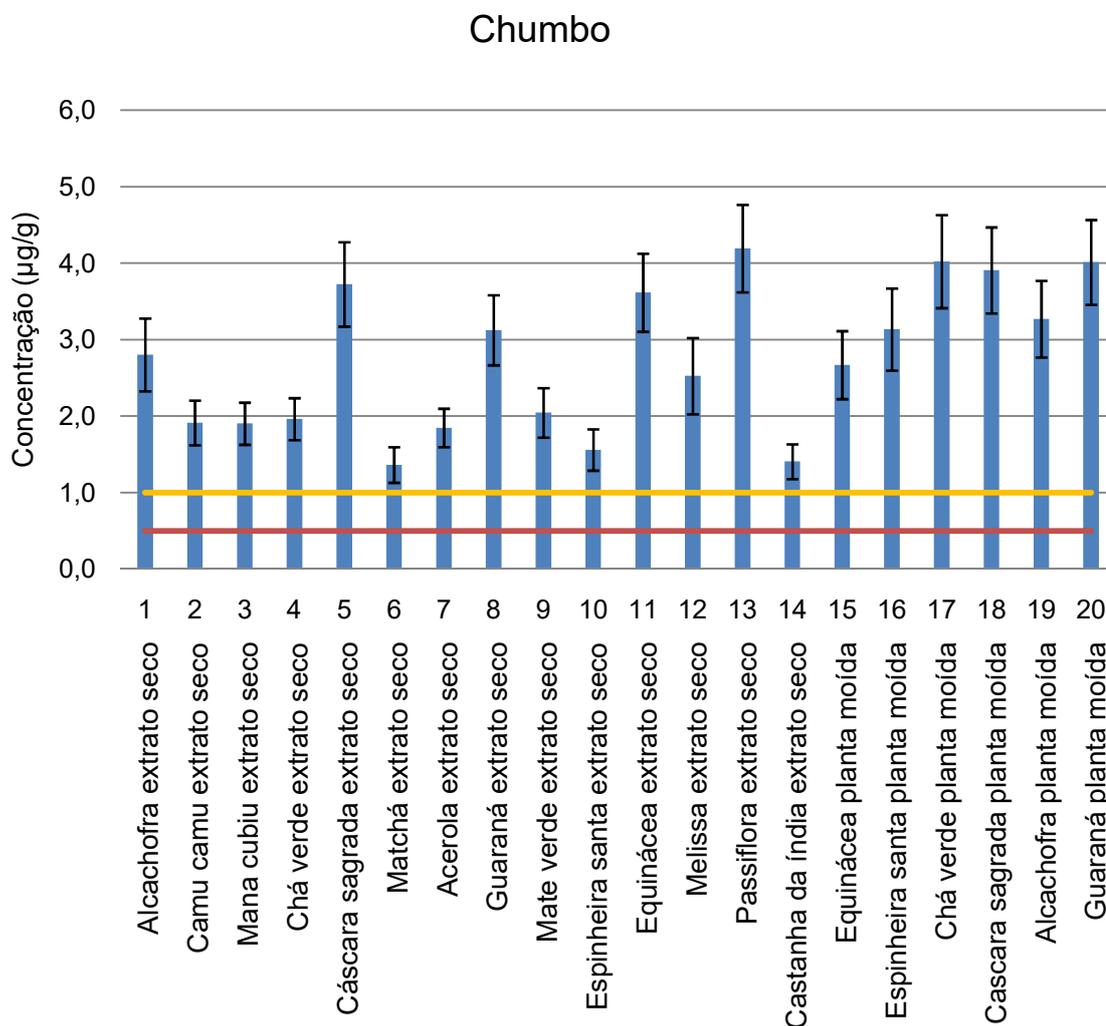
alergias, dislexia, perda de peso, hiperatividade, paralisia, fraqueza muscular, danos cerebrais, danos nos rins e podem até causar a morte (MARTIN S, 2009).

O LMP para o elemento Chumbo de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) é de 1.0 $\mu\text{g/g}$ e para a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 0.5 $\mu\text{g/g}$, ambos indicados no gráfico da Figura 5.1.23.1 como linhas amarela e vermelha, respectivamente.

Observa-se na Figura 5.1.23.1 que as concentrações de todas as amostras estão fora do LMPs pelas Farmacopeias Brasileira (Tabela 5.1.4) e Americana (Tabela 5.1.5).

Novamente foi observada a diminuição das concentrações de Chumbo após o processo produtivo. No caso do aumento na concentração de Chumbo no extrato nº 11 (Equinácea), quando comparado com a respectiva planta moída nº 15, podemos sugerir que o aumento deve ser proveniente da adição de adjuvantes e excipientes no processo produtivo dos extratos, pois conforme mostra a Tabela 5.1.3, alguns adjuvantes como o amido de milho, apresentam alta concentração de Chumbo.

Figura 5.1.23.1 – Concentração de Chumbo nas amostras. As linhas amarela e vermelha representam os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana respectivamente para o elemento Chumbo.



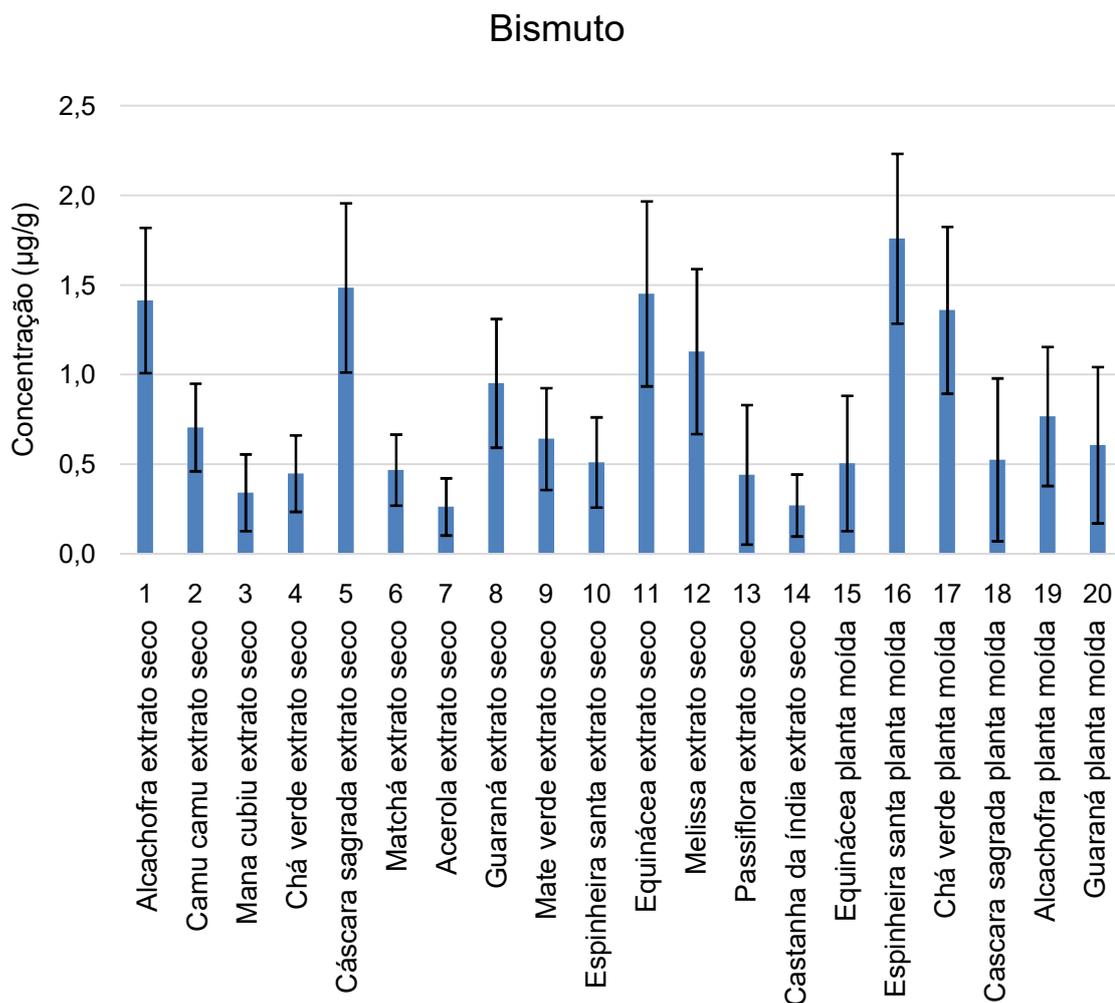
Fonte: Elaboração própria

5.1.24. Bismuto

Não há LMP para o elemento Bismuto nas monografias consultadas.

Observa-se na Figura 5.1.24.1 que houve aumento nas concentrações de Bismuto nas amostras dos extratos secos em relação às plantas moídas, com exceção dos extratos nº 4 e 10, onde verificou-se uma diminuição. Como o Bismuto aparece também como contaminante dos adjuvantes, isso poderia explicar em parte o aumento nos extratos. No caso das amostras de extratos nº 4 e 10, como nas plantas moídas a concentração de Bismuto era alta e sabemos que o processo de produção dos extratos é bastante ineficiente para a extração dos elementos químicos, esta diminuição pode ser explicada por este fato.

Figura 5.1.24.1 – Concentração de Bismuto nas amostras.



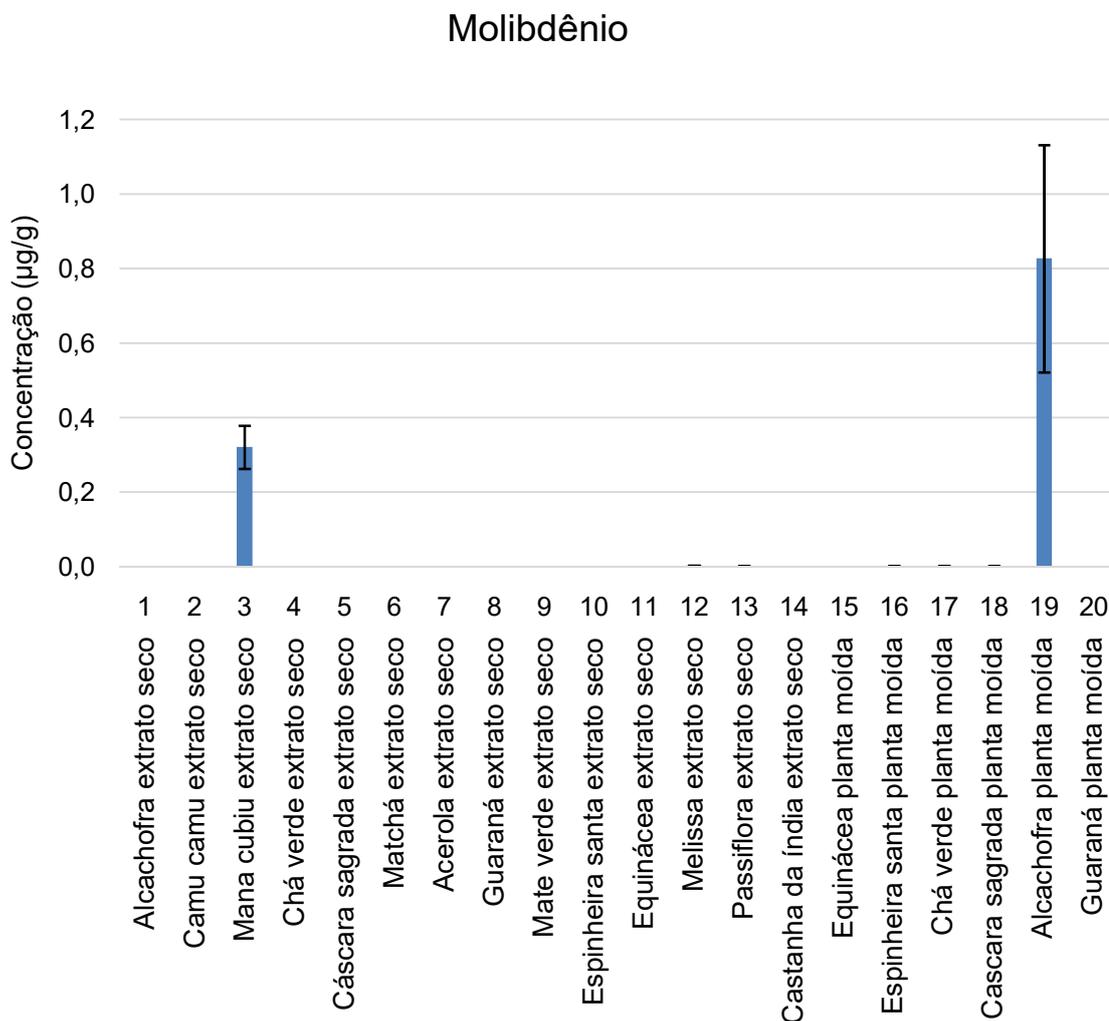
Fonte: Elaboração própria

5.1.25. Molibdênio

O LMP para o elemento Molibdênio de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) é de 25 µg/g e para a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 300 µg/g, em ambos os casos trata-se de um LMP alto.

Observa-se na Figura 5.1.25.1 que todas as amostras estão de acordo com o LMPs por ambas as Farmacopeias. A planta moída nº 19 (Alcachofra) foi a que apresentou a maior concentração de Molibdênio, porém como já era esperado, o mesmo diminui no correspondente extrato devido ao processo produtivo.

Figura 5.1.25.1 – Concentração de Molibdênio nas amostras.



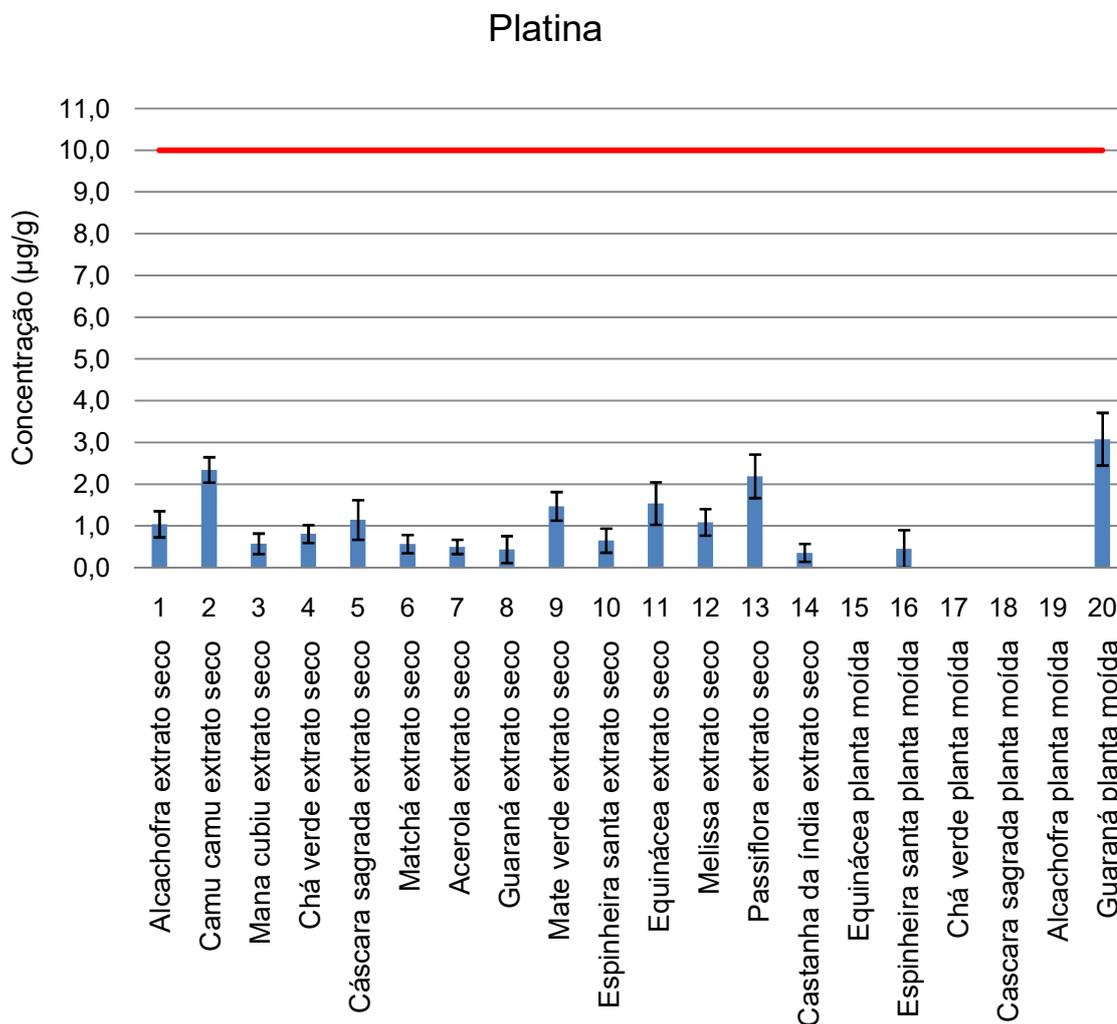
Fonte: Elaboração própria

5.1.26. Platina

O LMP para o elemento Platina de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Tabela 5.1.4) e para a Farmacopeia Americana (Tabela 5.1.5) é de 10 µg/g, indicados no gráfico da Figura 5.1.26.1 como linha vermelha.

Observa-se na Figura 5.1.26.1 que todas as amostras estão de acordo com o LMP. No caso das amostras de plantas moídas de nº 20 e 8 houve diminuição da Platina nos correspondentes extratos, como já era esperado. Também pode ter ocorrido contaminação dos extratos por Platina, pois este elemento aparecia em alguns adjuvantes.

Figura 5.1.26.1 – Concentração de Platina nas amostras. A linha vermelha representa os LMPs estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e Americana para o elemento Platina.



Fonte: Elaboração própria

5.2. Resultado das Análises Multivariadas dos Dados

5.2.1. Resultado das Análises por Agrupamento

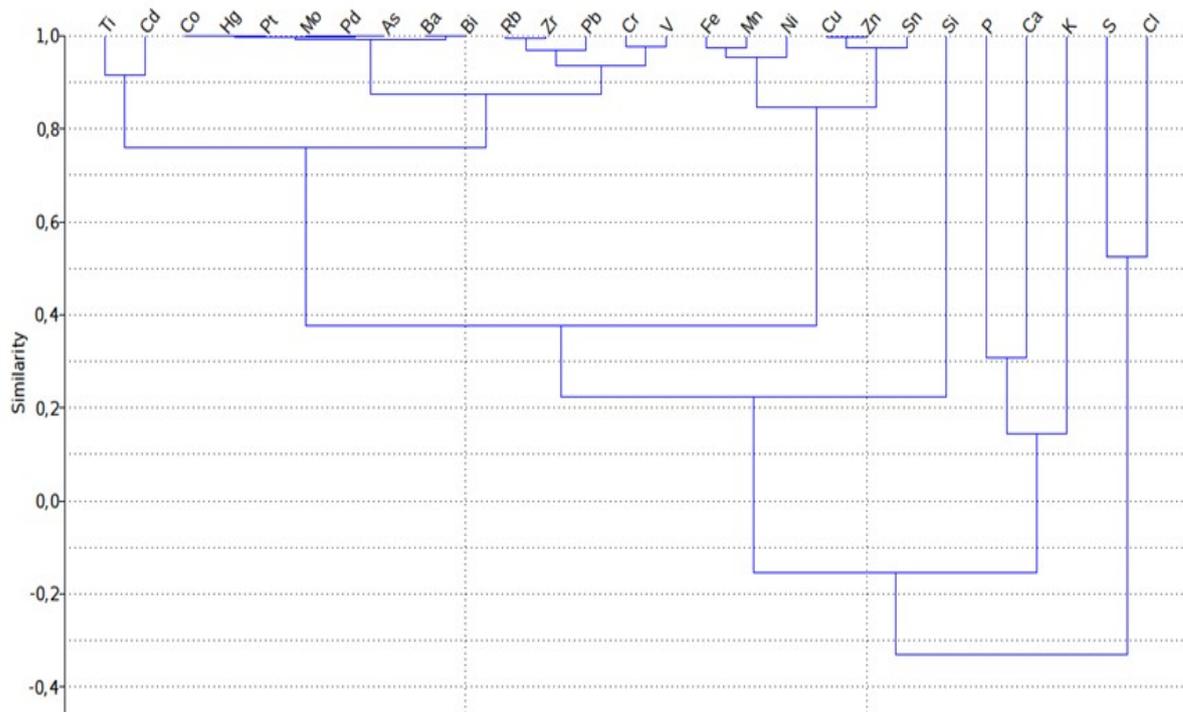
Os dados foram organizados em uma tabela na qual suas linhas representam as plantas. Da primeira linha até a linha 14 estão os extratos secos e das linhas 15 a 20, as plantas moídas. Além disso, há mais quatro linhas com os adjuvantes empregados no processo de extração. Nas colunas da tabela estão os elementos medidos por ED-XRF. Esta tabela foi transposta em relação à figura 5.2.1.1² pelo

²Na planilha original, os elementos estão nas linhas e as plantas estão nas colunas.

fato de que os *softwares* de análise multivariada convencionam que as linhas são os objetos (registros) e as colunas são os atributos (campos).

A partir dos resultados das análises, as amostras foram agrupadas por semelhança de dados normalizados (Figura 5.2.1.1) e os dados que possuem altas correlações (>0.9) foram destacados (Figura 5.2.1.2).

Figura 5.2.1.1 – Dendrograma mostrando a correlação entre os elementos encontrados nas amostras.



Fonte: Elaboração própria

Figura 5.2.1.2 – Altas correlações entre os elementos encontrados nas amostras.



Fonte: Elaboração própria

A análise de agrupamentos realizada teve como objetivo verificar dois tipos de correlações: entre os objetos (extratos secos e plantas moídas) e entre os atributos (elementos químicos).

No primeiro caso, procurou-se verificar se as formas “extrato seco” e “planta moída” das plantas recaem em dois grupos distintos, evidenciando características distintas de cada processo. Como o número de variáveis (elementos) é grande, optou-se pela visualização por dendrograma. Utilizando-se a linguagem Python e bibliotecas matemáticas e gráficas associadas, obteve-se a representação da figura 5.2.1.3.

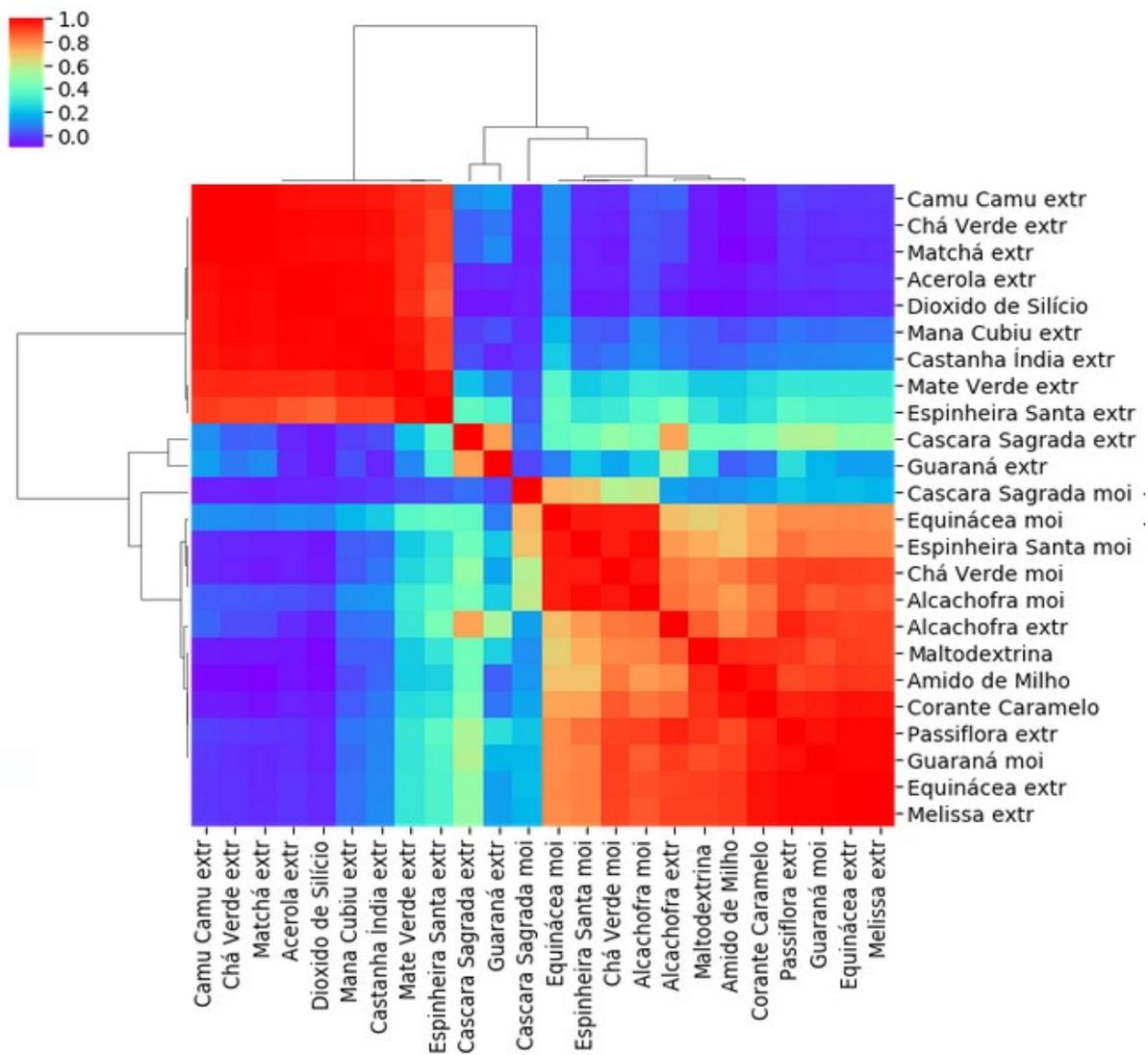
Acompanhando a sequência das amostras agrupadas nesta figura, observa-se que, desde o extrato seco de camu-camu até o extrato seco de espinheira santa os dados estão altamente correlacionados (correlação próxima de 1,0). Neste grupo estão apenas extratos secos e o adjuvante dióxido de silício. Tal resultado decorre de sua utilização como adjuvante em todas as amostras de extratos secos e a ausência do mesmo nas amostras de planta moída. Os extratos secos de guaraná e cáscara sagrada formam um grupo distinto.

Em seguida, observa-se outro grande grupo formado pelas plantas moídas e demais adjuvantes. Neste segundo grupo, aparecem também extratos secos de alcachofra, passiflora, equinácea e melissa. Analisando-se mais detalhadamente o dendrograma nesta região, há um subgrupo fortemente correlacionado, formado pelas plantas moídas de equinácea, espinheira santa, chá verde e alcachofra. A alcachofra planta moída está bem correlacionada com o extrato seco de alcachofra, devido a particularidades na sua constituição química. Observa-se também que a utilização de amido e maltodextrina como adjuvantes não contribuem para discriminar o modo de preparação dos extratos secos.

Para realizar a análise de agrupamentos dos elementos, a matriz de dados deve ser transposta, interpretando as linhas (elementos) como objetos amostrados e as colunas (plantas) como atributos destes elementos. Um dendrograma padrão (figura 5.2.1.1) mostra a similaridade das correlações calculadas entre os elementos detectados nas plantas, tanto moídas quanto extratos secos. No lado esquerdo, observa-se grupos de elementos altamente correlacionados entre si ($> 0,9$). Estes grupos estão detalhados na figura 5.2.1.2. Concentrando-se especialmente nos metais pesados, observa-se que o Cádmio e o Chumbo estão em grupos separados de um outro grupo que contém juntos o Mercúrio e o Arsênio. Na figura 5.2.1.1, se forem consideradas correlações acima de 0,75, nota-se que há um grupo formado por Titânio e Cádmio, outro do Cobalto até o Bismuto, outro do Rubídio ao Vanádio, o grupo de Ferro, Manganês e Níquel, mais um grupo contendo Cobre, Zinco e

Estanho. Os demais, Silício, Fósforo, Cálcio, Potássio, Enxofre e Cloro, não se correlacionam significativamente entre si nem entre quaisquer outros elementos, provavelmente devido à sua importância nos processos metabólicos e na constituição particular de cada planta e do solo.

Figura 5.2.1.3 – Matriz de escalas em cores das correlações entre as plantas. Nas bordas, dendrogramas representando os agrupamentos formados por similaridade.



Fonte: Elaboração Própria

5.2.2. Resultados das Análises de Componentes Principais

Inicialmente, verificou-se as contribuições dos componentes principais, dados pela tabela 5.2.2.1. Nota-se que a análise pode ser feita com apenas duas componentes principais (ou seja, em um gráfico no plano) porque estas duas componentes “carregam” 83,6% da informação necessária, o que é um resultado muito bom.

Tabela 5.2.2.1 – Importância das componentes principais obtidas

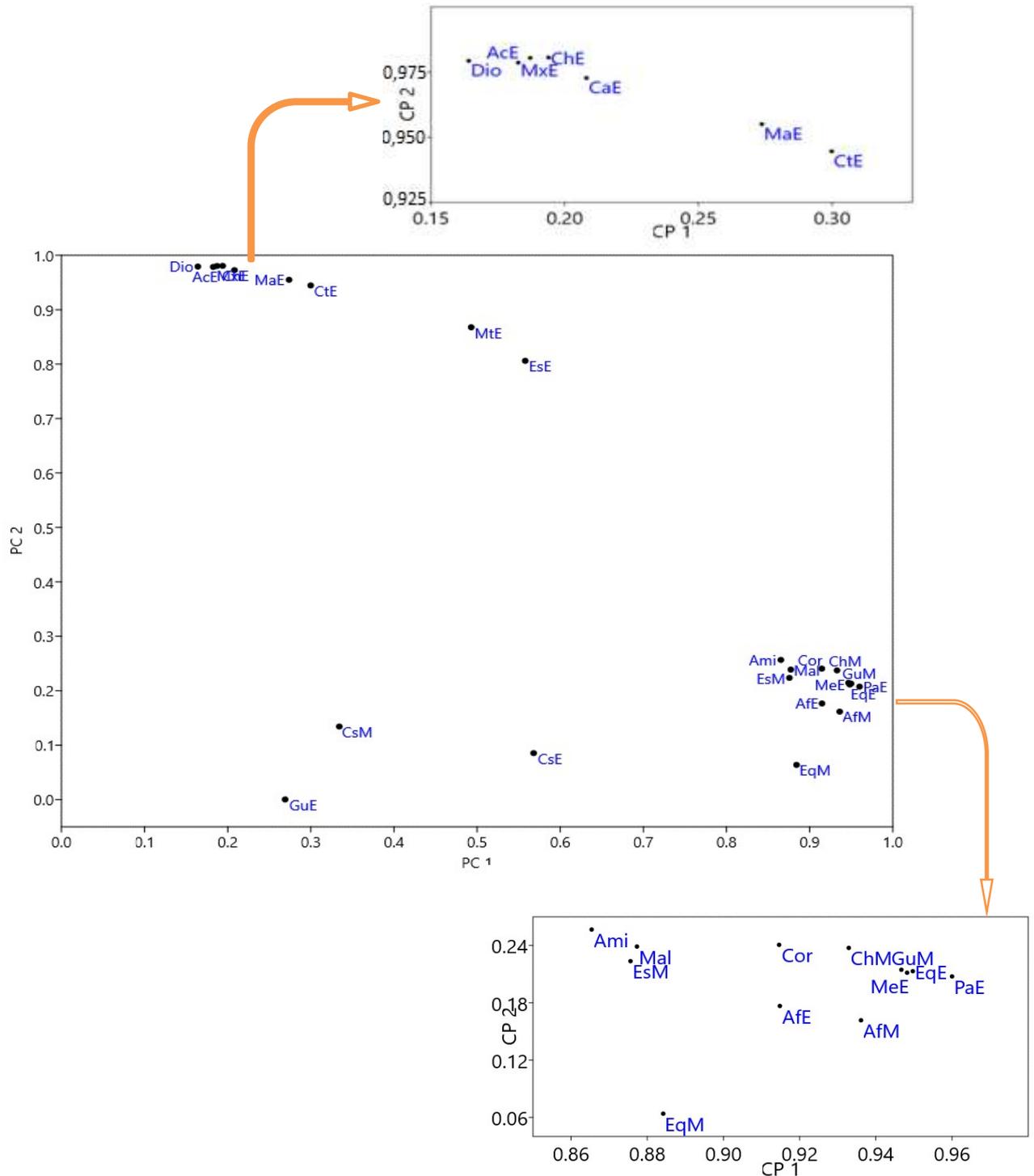
CP	1	2	3	4	5	6
Autovalor (λ)	11,5	8,6	1,9	1,5	0,31	0,18
% variância	48,0	35,6	7,8	6,5	1,3	0,75
% acumulada	48,0	83,6	91,4	97,9	99,2	99,95

No gráfico da figura 5.2.1.4 observa-se como as plantas estão distribuídas em relação às duas primeiras componentes principais (*scores*) e na figura 5.2.1.5 e 5.2.1.6 (ampliação da figura 5.2.1.5), como os elementos químicos se distribuem em relação às mesmas componentes (*loadings*).

Observa-se na figura 5.2.1.4 que a distribuição das plantas no gráfico se agrupa de modo coerente com a observada na figura 5.2.1.3, ou seja, desde a planta Camu-Camu extrato até Espinheira Santa extrato estão altamente correlacionadas com alto *score* na 2ª componente principal, associadas ao Dióxido de Silício (com *loading* muito alto mostrado na fig. 5.2.1.5 na direção da mesma componente). O outro grupo de plantas com alta correlação entre si apresenta *scores* bem altos na 1ª componente principal (figura 5.2.1.4), fortemente associada ao potássio, o qual apresenta *loading* bem alto nessa componente (figura 5.2.1.5), o que concorda com a distribuição mostrada na fig. 5.1.11.1.

A Cáscara Sagrada apresenta *scores* próximos, tanto para a forma moída quanto para o extrato na segunda componente principal e não se agrupa com as demais plantas, o mesmo ocorrendo com o extrato de Guaraná, devido ao *mix* de elementos químicos aparecerem em proporções significativamente distintas das demais plantas. Um caso à parte é a Alcachofra, cuja composição dos elementos detectados diferem pouco no extrato e na apresentação moída, mas se agrupa por similaridade com a maioria das plantas moídas.

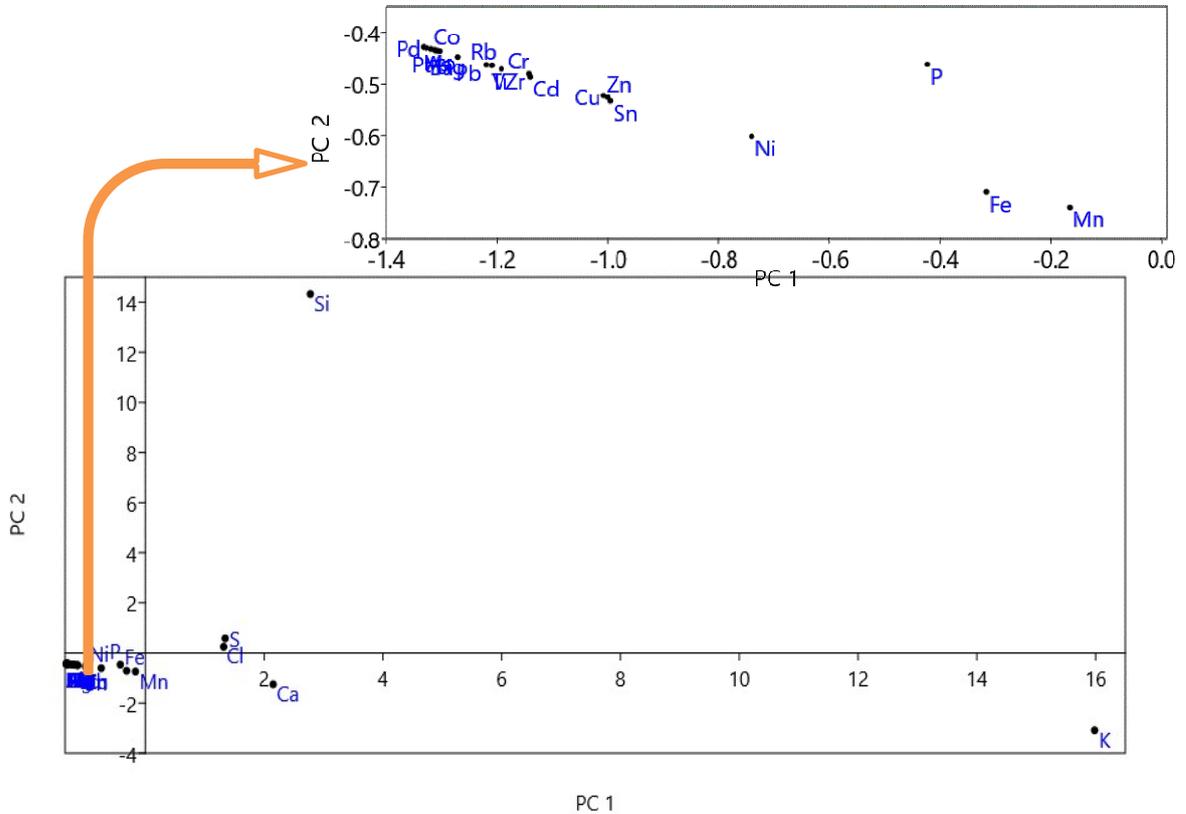
Figura 5.2.1.4 – Scores nas duas primeiras componentes.



Legenda: **AcE**: Acerolaextrato seco; **AfE**: Alcachofraextrato seco; **AfM**: Alcachofra planta moida; **Ami**: AmidodeMilho; **CaE**: CamuCamuextrato seco; **ChE**: CháVerdeextrato seco; **ChM**: CháVerde planta moida; **Cor**: CoranteCaramelo; **CsE**: CascaraSagradaextrato seco; **CsM**: CascaraSagrada planta moida; **CtE**: Castanha da Índiaextrato seco; **Dio**: Dioxidode silício; **EqE**: Equináceaextrato seco; **EqM**: Equinácea planta moida; **EsE**: EspinheiraSantaextrato seco; **EsM**: EspinheiraSanta planta moida; **GuE**: Guaranáextrato seco; **GuM**: Guaraná planta moida; **MaE**: ManaCubiuextrato seco; **Mal**: Maltodextrina; **MeE**: Melissaextratoseco; **MtE**: MateVerdeextrato seco; **MxE**: Matcháextrato seco; **PaE**: Passifloraextrato seco.

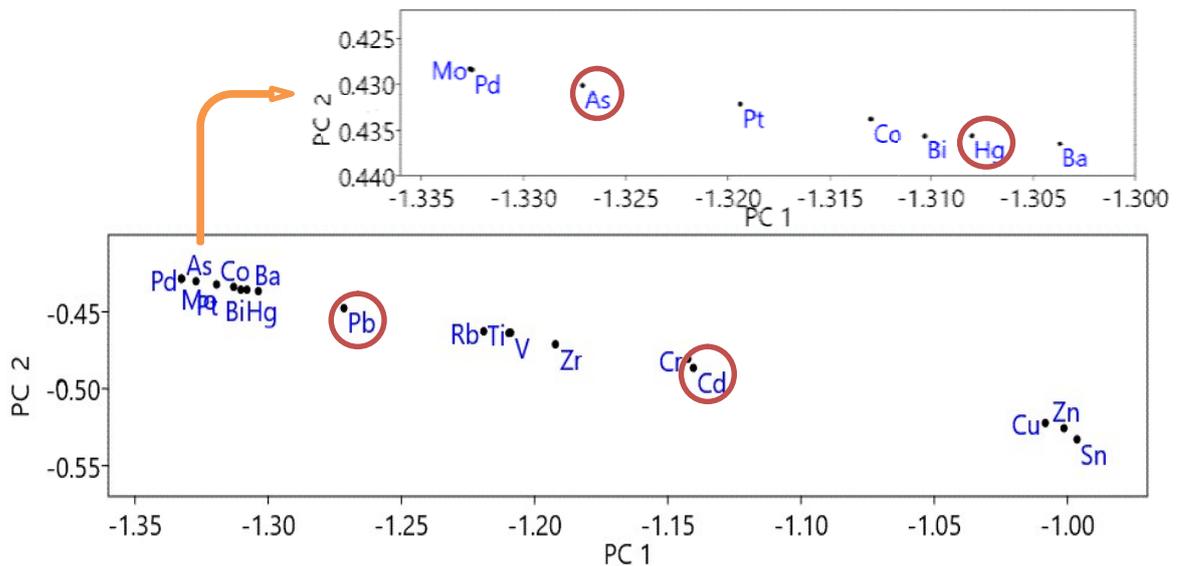
Fonte: Elaboração Própria.

Figura 5.2.1.5 – Loadings das variáveis (elementos químicos) em relação às componentes principais. O silício é o elemento mais relacionado à 2ª componente principal (maior loading na CP2) e o potássio na 1ª componente principal, seguido do cálcio, cloro e enxofre.



Fonte: Elaboração Própria

5.2.1.6 – Detalhamento dos outros elementos. Em destaque, os metais pesados.



Fonte: Elaboração Própria

5.3. Comparação Entre Técnicas

A técnica ED-XRF utilizada neste estudo para identificação e quantificação de metais e não metais, não é indicada como técnica válida pelas Farmacopeias Brasileira e Americana para este tipo de análise. De acordo com a Farmacopeia Brasileira, a técnica aprovada para quantificação dos metais pesados As, Cd, Hg e Pb, além de uma gama de outros elementos como Ir, Mn, Mo, Ni, Pd, Pt, Rh, Ru, V, Cr e Cu é a Espectrometria de Absorção Atômica. O método por espectrometria atômica possibilita quantificar cada elemento contaminante na amostra, com margem de segurança, levando em consideração os limites impostos pelas Farmacopeias (FRADKIN; DURA; NOORDERMEER, 2010). No entanto, a técnica de absorção atômica requer o uso de equipamentos de alto custo, a preparação das amostras e a calibração do sistema precisam ser feitas por técnicos altamente especializados, inviabilizando seu uso na grande maioria dos laboratórios.

Por outro lado, a técnica da ED-XRF, como ficou demonstrado neste estudo, pode ser usada para quantificar praticamente todos os elementos de interesse da indústria farmacêutica, nos limites estabelecidos pelas Farmacopeias.

A preparação das amostras é fácil e versátil, podendo variar de acordo com a necessidade da análise para diferentes tipos de amostras.

A calibração é simples e pode ser tanto geral quanto específica para os elementos de acordo com as concentrações admissíveis, sejam elas abaixo de $1\mu\text{g/g}$, (pois nestes casos sem a calibração específica o desvio na medida poderá ficar na mesma ordem de grandeza do limite admissível) podemos citar neste caso os limites estabelecidos para os metais pesados As, Hg, Pb e Cd ou até mesmo concentrações mais altas, o que mostra mais uma vez a versatilidade da técnica.

Mostramos que para a quantificação, a técnica é precisa e confiável e assim que validada, poderia ser a técnica recomendada nas Farmacopeias e consequentemente realizada nos laboratórios de análise em geral.

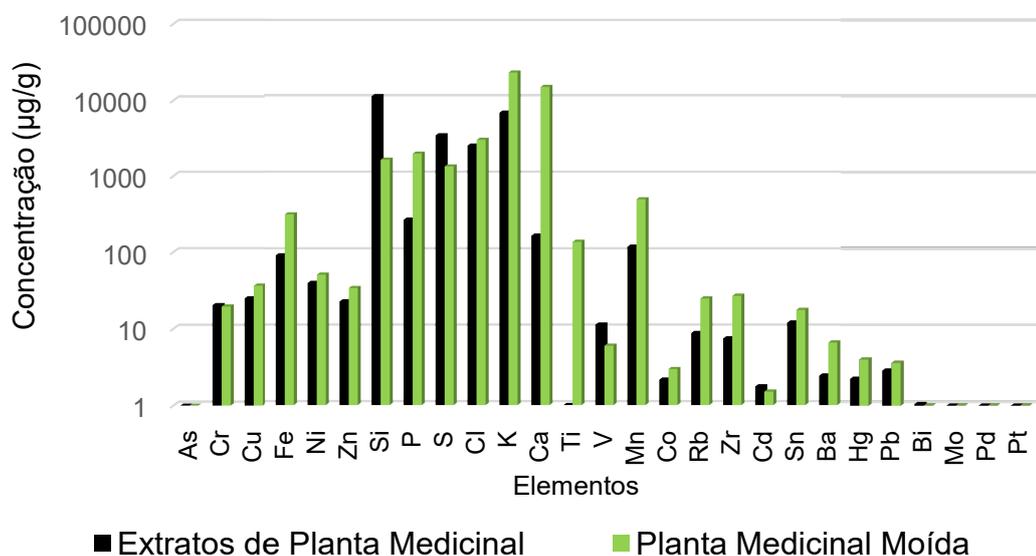
5.4. Correlação das plantas medicinais moídas e os extratos secos das plantas medicinais no processo produtivo.

Considerando o fato de a planta medicinal moída ser a matéria prima para fabricação dos extratos secos e analisando as concentrações dos diferentes elementos presentes nas mesmas (Tabela 5.1.2), assim como os correspondentes extratos secos medicinais (Tabela 5.1.1), verifica-se que em média o processo de extração utilizado tem baixa eficiência na extração da grande maioria dos elementos, como por exemplo os elementos Cálcio, Potássio e Ferro, cuja concentração nos extratos secos é menor que nas plantas moídas.

Por outro lado, o processo de extração diminui a concentração de alguns elementos considerados nocivos à saúde humana, como no caso dos elementos Chumbo e Mercúrio.

A Figura 5.4.1 traz o valor médioda concentração para cada elemento químico encontrado nas plantas moídas e no respectivo extrato seco feito com esta planta, como forma de corroborar as afirmações acima, ou seja, que o processo de extração dos elementos químicos tem baixa eficiência. Somente os elementos Silício e o Enxofre aparecem em quantidades maiores nos extratos secos do que nas plantas moídas. No caso do silício a explicação é o uso na produção dos extratos secos do composto dióxido de silício.

Figura 5.4.1 – Concentração média dos diferentes elementos encontrados nos extratos secos e nas plantas medicinais moídas.



6. CONCLUSÃO

A vantagem da técnica de ED-XRF está no fato de conseguir quantificar uma gama de elementos simultaneamente tendo os mesmos, concentrações tão altas quanto às encontradas para o elemento Silício, quando medimos sua concentração no adjuvante, sendo da ordem de 100% ou 1000000 µg/g, até concentrações da ordem de 0.1 µg/g como as encontradas para o Arsênio em alguns extratos.

Neste estudo, fizemos a análise química elementar medindo a concentração dos elementos químicos presentes em quatorze amostras de extratos secos de plantas medicinais e seis plantas medicinais moídas, pela técnica de Fluorescência de Raios-X por Dispersão em Energia (ED-XRF). A análise dos resultados qualitativos e quantitativos permitiu a identificação e quantificação de 27 elementos químicos, a saber: As, Cr, Cu, Fe, Ni, Zn, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Mn, Co, Rb, Zr, Cd, Sn, Ba, Hg, Pb, Bi, Mo e Pt.

A análise dos resultados deste estudo indicou fortemente que a ED-XRF poderia ser adotada como técnica recomendada pelas Farmacopeias, mesmo sabendo que são limitadas para a medida de alguns elementos químicos, como os metais pesados As, Hg, Pb e Cd, pois os limites admissíveis para estes metais são extremamente baixos, mas dentro das possibilidades da técnica, se a mesma for preparada para esta finalidade, ou seja, calibrada para a medida apenas de baixas concentrações para alguns elementos.

A ED-XRF permitiu também atingirmos um dos objetivos deste estudo que era a influência do processo de produção dos extratos secos. Queríamos saber como o processo produtivo poderia ou não interferir no extrato seco da planta medicinal, pronta para o consumo.

Este estudo revelou primeiro que o processo de obtenção dos extratos é altamente ineficiente do ponto de vista da transferência dos elementos químicos presentes nas plantas moídas para os extratos secos. Supostamente um extrato é consumido por incorporar elementos químicos essenciais à saúde, como Cálcio, Potássio, Ferro, etc. e por ser natural, supostamente deveriam ser isentos de substâncias tóxicas. No entanto, o que encontramos foi o inverso desta premissa, ou seja, o processo de extração tem baixa eficiência na transferência dos elementos químicos das plantas para os extratos. Isso pode ajudar quando temos um elemento tóxico como Pb ou Hg presente na planta moída e, portanto, tem sua concentração

diminuída no extrato, porém para a grande maioria dos elementos não é o que se espera.

Neste estudo foi demonstrado também que os adjuvantes usados no processo produtivo, como o Amido de Milho, a Maltodextrina e o Corante Caramelo, introduzem impurezas no produto final, sendo algumas altamente tóxicas e indesejáveis como os metais pesados.

Mostramos que alguns extratos secos contêm substâncias tóxicas, como os metais pesados, acima dos limites estabelecidos nas Farmacopeias. Isso pode levar a sérios danos à saúde dos consumidores destes extratos, pois geralmente o uso destes produtos é frequente e algumas destas substâncias, em longo prazo, se acumulam no organismo potencializando o dano. Por outro lado, encontramos também substâncias que são de vital importância para o metabolismo humano, algumas necessárias para o crescimento, desenvolvimento e correto funcionamento dos órgãos e agindo inclusive na prevenção e cura de doenças.

A Técnica de Análise Multivariada foi aplicada com sucesso corroborando os resultados obtidos e mostrando nova possibilidade de análise de dados que envolvam muitas variáveis.

Por fim podemos afirmar que a ED-XRF foi usada com sucesso na determinação de oligoelementos em extratos de plantas medicinais e plantas medicinais moídas. A técnica requer apenas pequenas quantidades de amostra de material, a análise é rápida levando em média 300s por amostra, precisa e mostrou-se muito versátil quando comparada com outras técnicas. Entendemos que a EDXRF poderia ser adotada como técnica recomendada pelas Farmacopeias, quando o problema for a determinação química elementar.

REFERÊNCIAS

ABDEL-TAWAB, M. Do We Need Plant Food Supplements ? A Critical Examination of Quality , Safety , Efficacy , and Necessity for a New Regulatory Framework. **Planta Medica**, p. 372–393, 2017.

AL-OMARI, S. Determination of essential and toxic trace elements in ten herbal medicines using energy-dispersive XRF analysis. **X-Ray Spectrometry**, v. 40, n. 1, p. 31–36, 2011.

ALINA, M. et al. Heavy metals (mercury, arsenic, cadmium, plumbum) in selected marine fish and shellfish along the straits of malacca. **International Food Research Journal**, 2012.

AMPTEK. **MP1 XRF Mounting Plate**. Disponível em: <<http://www.amptek.com/xrf/>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

AMPTEK. **Periodic Table and X-Ray Emission Line Lookup Chart**. Disponível em: <<http://amptek.com/periodic-table-and-x-ray-emission-line-lookup-chart/>>. Acesso em: 23 out. 2018.

AMPTEK. **X-123SDD Complete X-Ray Spectrometer with Silicon Drift Detector (SDD)**. Disponível em: <<http://amptek.com/products/x-123sdd-complete-x-ray-spectrometer-with-silicon-drift-detector-sdd/>>. Acesso em: 21 fev. 2019.

ATSDR'S TOXICOLOGICAL PROFILES. **Toxicological Profile for Nickel**. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp15.pdf>>. Acesso em: 21 fev. 2019.

AZEVEDO, J. C. S. DE. Características bioativas, funcionais e efeito protetor do resíduo desidratado de camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. (McVaugh)) sobre doenças degenerativas utilizando modelos in vivo *C. elegans*. **Tese (Doutorado em Engenharia Química) Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, 2015.

BARRETT, B. Medicinal properties of Echinacea: A critical review. **Phytomedicine**, p. 66–86, 2003.

BERNARD, A. Cadmium & its adverse effects on human health. **The Indian Journal of Medical Research**, 2008.

BERTIN, E. P. Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis. p. 1079, 1975.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira, volume 1. In: Brasília,DF: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. p. 174.

BRASIL. Formulário de Fitoterápicos Farmacopeia Brasileira. In: 1. ed. Brasília: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária, 2011. p. 40,41,76.

C. VANDECASTEELE, C. B. Modern methods for trace element determination.

Trends in Food Science & Technology, p. 118, 1995.

CHUPARINA, E.; GUNICHEVA, T. Nanodestructive X-ray fluorescence determination of some elements in plant materials. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 58, n. 10.1023 p. 856–861, 2003.

CLETO, D. A. M. Análise de saliva e do fluido sulco gengival pelo método de fluorescência de raios X por reflexão total. p. 87, 2013.

EJECHI, B. O.; OJEATA, A.; OYELEKE, S. B. The effect of extracts of some Nigerian spices on biodeterioration of okro (*Abelmoschus* (L) Moench) by fungi. **Journal of Phytopathology**, p. 145,469, 1997.

EKINCI, N. et al. Analysis of trace elements in medicinal plants with energy dispersive X-ray fluorescence. **Section Title: Pharmaceutical Analysis**, v. 260, n. 1, p. 127–131, 2004.

ENERGY AGENCY INTERNACIONAL ATOMIC. **Radioisotope X-ray fluorescence Spectro-metry.**, 1970.

ESTEVAM, M. **Avaliação In Vivo de Fe na pele humana e de camundongo Swins através da técnica de fluorescência de raios X.** Londrina, 2005.

FRADKIN, L. G.; DURA, J.-M.; NOORDERMEER, J. N. Ryks: new partners for Wnts in the developing and regenerating nervous system. **Trends in neurosciences**, v. 33, n. 2, p. 84–92, fev. 2010.

FREITAS, C. A. S. DE et al. ACEROLA: PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO, ASPECTOS NUTRICIONAIS E PRODUTOS. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, p. 395–400, 2006.

HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., RYAN, P. D. **Palaeontologia Electronica**. Disponível em: <<https://folk.uio.no/ohammer/past/>>. Acesso em: 6 ago. 2018.

HERBER, R. F. M.; STOEPLER, M. Trace Element Analysis in Biological Specimens. In: **Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry**. 15th. ed. New York: Elsevier Science, 1994. p. 575.

HUGHES, J. P.; POLISSAR, L.; VAN BELLE, G. Evaluation and synthesis of health effects studies of communities surrounding arsenic producing industries. **International Journal of Epidemiology**, 1988.

IVANOVA, J.; DJINGOVA, R.; KULEFF, I. Determination of some heavy and toxic elements in plants and soils with ED-XRF using americium-241 excitation source. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry - J RADIOANAL NUCL CHEM.** 238., p. 29–32, 1998.

JAIN, A.K., DUBES, R. C. **Algorithms for Clustering Data**. NJ, USA: ISBN:0-13-022278-X, 1988.

JAISHANKAR, M. et al. **Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals** *Interdisciplinary Toxicology*, 2014.

JENKINS R. ET AL. Quantitative X-ray Spectro-metry. p. 588, 1981.

KATSANOS, A. A. **X-Ray Methods**. In: **IAEA, ed. - Elemental Analysis of Biological Materials**. Viena, 1980.

KOUTRAS, G. A. et al. STUDIES ON CHROMATED ERYTHROCYTES. MECHANISMS OF CHROMATE INHIBITION OF. **British journal of haematology**, 1965.

LÄNGER, R. et al. Quality Standards for Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations - Appropriate or Improvements Necessary? **Planta Medica**, v. 84, n. 6–7, p. 350–360, 2018.

MARGUÍ, E.; HIDALGO, M.; QUERALT, I.. Multielemental fast analysis of vegetation samples by wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometry: Possibilities and drawbacks. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, 2005.

MARGUÍ, E.; QUERALT, I.; HIDALGO, M. Application of X-ray fluorescence spectrometry to determination and quantitation of metals in vegetal material. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 362–372, 2009.

MARTIN S, G. W. Human health effects of heavy metals. **Environmental Science and Technology Briefs for Citizens**, p. 1–6, 2009.

MCGLADDERY et al. Elemental assessment of vegetation via portable X-ray fluorescence (PXRF) spectrometry. **Journal of environmental management**, p. 210–225, 2018.

MCKINNEY. Python for Data Analysis. 2013.

NKANSAH, M. A. et al. Heavy metal contents of some medicinal herbs from Kumasi, Ghana. **Cogent Environmental Science**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2016.

OBIJUNWA, E. I.; ADEBAJO, A. C.; OMOBUWAJO, O. R. Essential and trace element contents of some Nigerian medicinal plants. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, 2002.

OLABANJI, S. O. et al. PIGE-PIXE analysis of chewing sticks of pharmacological importance. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, p. 113, 368, 1996.

PARREIRA, P. S. Metodologia de EDXRF e aplicações com um sistema portátil. **LFNATEC - Publicação Técnica do Laboratório de Física Nuclear Aplicada**, 2006.

PÉREZ, D. V. et al. Geoquímica de alguns solos brasileiros. **Pesq. and CNPS**, p. 1–14, 1997.

POLES JUNIOR, A. A. ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SALIVA DE FUMANTES E NÃO FUMANTES UTILIZANDO A TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X. **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - UNIVERSIDADE DE SOROCABA**, p. 70, 2016.

RIBEIRO MSS, Z. J. Caracterização do solo e de plantas utilizadas como possíveis bioindicadores da presença dos componentes da escória de níquel. **Ciência ET Praxis**, p. 17–22, 2011.

SAAD, G. A. ET AL. Fitoterapia Contemporânea. Tradição e Ciência na Prática Clínica. In: 2ª Edição ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2016. p. 53,201.
SÁNCHEZ, H. J. et al. Total reflection X-ray fluorescence analysis of oral fluids of women affected by osteoporosis and osteopenia. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, 2008.

SANTOS, A. D. F. et al. Multielement determination of Macro and micro contents in medicinal plants and phytomedicines from Brazil by ICP OES. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2017.

SERENO, A. B. et al. CULTIVO DO MANÁ-CUBIU (*Solanum sessiliflorum* Dunal) NO LITORAL DO PARANÁ E SUA CONTEXTUALIZAÇÃO COM A SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL *. **Divers@ Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 10, n. 2, p. 123–132, 2017.

SIEGBAHN. Alpha, Beta and Gamma-Ray Spectroscopy. p. 959, 1965.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia, da Planta ao Medicamento**. 5. ed. Florianópolis, SC: Editora da UFSC, 2003.

SINGH, N.; KUMAR, D.; SAHU, A. P. **Arsenic in the environment: Effects on human health and possible prevention** *Journal of Environmental Biology*, 2007.

SMITH, A. H.; LINGAS, E. O.; RAHMAN, M. Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: A public health emergency. **Bulletin of the World Health Organization**, 2000.

THEODORIDIS, S.; KOUTROUMBAS, K. Pattern Recognition. In: 4th. ed. California, USA: Academic Press, 2009. p. 984.

Theory of XRF Copyright 2003 by Panalytical BV, The Netherlands. Disponível em: <https://www.chem.bg.ac.rs/~grzetic/predavanja/Nedestruktivna_hemijska_analiza_odabrana_poglavlja/XRF/Literature/PANanalytical_XRF_theory.pdf>. Acesso em: 18 out. 2018.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. USP. In: 40. ed. Rockville: Maryland, EUA: United States Pharmacopeial Convention, 2017. p. 8.066, 8.067.

Z. S. CHEN. Biogeochemistry of Trace Metals. **Lewis Publishers**, p. 85, 1992.

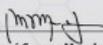
ZHONG, W. S.; REN, T.; ZHAO, L. J. Determination of Pb (Lead), Cd (Cadmium), Cr

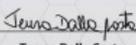
(Chromium), Cu (Copper), and Ni (Nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Food and Drug Analysis**, 2016.

ANEXO A – APRESENTAÇÃO DO TRABALHO NO 4º CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

CERTIFICATE

We certify that the work **STUDY OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF PLANTS AND EXTRACTS OF MEDICINAL PLANTS, THROUGH X-RAY FLUORESCENCE TECHNIQUE**, authorship of **THAIS HORA PAULINO ESTANAGEL**, **JOSÉ MARTINS DE OLIVEIRA JUNIOR**, was presented as **POSTER PRESENTATION** at the **IV Congress of the Brazilian Association of Pharmaceutical Sciences - Biological Drugs: From Technology to Pharmaceutical Care**, held in **São Paulo (SP), Brazil**, from **September 6 to 8, 2018**.


Maria José Soares Mendes Giannini
President Congress


Teresa Dalla Costa
President ABCF



ABCF - 2018
BRAZILIAN ASSOCIATION OF PHARMACEUTICAL SCIENCES
Biological Drugs: from Technologies to Pharmaceutical Care
September 06 to 08, 2018
CENTRO FECOMÉRCIO DE EVENTOS, SÃO PAULO, SP

ANEXO B – APRESENTAÇÃO DO TRABALHO NA 41º ENCONTRO BRASILEIRO DE FÍSICA NUCLEAR.

XLI Brazilian Meeting on Nuclear Physics

CERTIFICATE

The Organizing Committee hereby certifies that the work "STUDY OF ELEMENTAL COMPOSITION OF PLANTS AND EXTRACTS OF MEDICINAL PLANTS THROUGH X-RAY FLUORESCENCE TECHNIQUE" by Thais Hora Paulino Estanagel, José Martins de Oliveira Junior, Valquiria Miwa Hanai-Yoshida, Waldemar Bonventi Júnior, Norberto Aranha, Marco Vinicius Chaud, Marta Maria Duarte Carvalho Vila, Vitor Manuel Cardoso Figueiredo Balcão was presented in the session APPLIED NUCLEAR PHYSICS of the XLI Brazilian Meeting on Nuclear Physics, which took place in Maresias, São Sebastião, SP from September 02 to 06, 2018.


Valdir Guimarães
Coordenador



197-22-1

São Sebastião, September 06, 2018