

DETERMINAÇÃO DE CONSTITUINTES INORGÂNICOS EM PLANTAS MEDICINAIS: UMA REVISÃO

*Fábio V. Sussa, Lucilaine S. Francisconi, Rodolfo D. M. R. Gonçalves,
Allan Santos, Paulo S. C. da Silva*

Centro do Reator de Pesquisas – IPEN-CNEN/SP
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo – SP
fvsussa@gmail.com

RESUMO

Com o objetivo de apresentar as atividades desenvolvidas no Reator Nuclear de Pesquisa IEA-R1, realizou-se uma revisão a partir de alguns trabalhos nos quais foram determinadas a constituição inorgânica em plantas de uso medicinal por meio da técnica de Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA). Dentre estes trabalhos, são abordados os teores dos elementos tóxicos ao ser humano e a contribuição para a recomendação destas plantas como fontes minerais na dieta alimentar. A determinação e quantificação elementar foram feitas por meio da técnica de Análise por Ativação Neutrônica Instrumental. São apresentadas as concentrações de elementos essenciais e não essenciais (As, Ba, Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, Hf, K, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Ta, Th, Ti, U, V, Zn e Zr) em plantas medicinais escolhidas entre as mais utilizadas popularmente, dentre as

66 catalogadas para comercialização pela Anvisa. Conclui-se que estas pesquisas colaboram com o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, promovendo o acesso e a qualidade das espécies estudadas.

1. INTRODUÇÃO

Para garantir o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos é importante promover pesquisas, regulamentar o cultivo, identificar princípios ativos, investigar a correlação entre os fatores que afetam a formação, o crescimento e as características medicinais das plantas [1].

A análise da composição multielementar de plantas medicinais também é importante e necessária, visto que a maioria não possui controle de qualidade para elementos inorgânicos. Dessa forma, podem apresentar contaminação por metais pesados em consequência da absorção de elementos presentes no solo e nas águas, muitas vezes, contaminados pelo uso de fertilizantes, pesticidas, combustão de carvão e óleo, emissões veiculares, mineração, fundição, refinamento e incineração de resíduos urbanos e industriais [2-4].

Os elementos químicos têm um papel fundamental em todos os sistemas biológicos, pois participam dos processos metabólicos, como componentes de diferentes enzimas, catalisando interações químicas em células vivas [5]. Esses elementos podem afetar a produção dos princípios ativos, bem como interferir na ação terapêutica, desempenhar importante papel tanto no bem-estar quanto na cura de doenças, ou mesmo causar toxicidade aos seres humanos [6-8].

Nas pesquisas para o desenvolvimento de fitoterápicos, o foco principal é a caracterização do princípio ativo da planta para a comprovação científica das propriedades terapêuticas [9,10]. Entretanto, existem poucos registros com descrições das concentrações de macro e micronutrientes presentes em plantas utilizadas com fins terapêuticos.

Neste sentido, visando contribuir para o estudo de plantas medicinais e às discussões das Políticas Nacionais de implantação de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, voltadas à implementação da Fitoterapia no Sistema Único de Saúde, realizou-se a presente revisão dos trabalhos desenvolvidos no reator de pesquisa IEA-R1, entre 2008 e 2017, sobre a determinação dos constituintes inorgânicos presentes nas plantas medicinais mais utilizadas popularmente, dentre as 66 catalogadas para a comercialização pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária [11].

2. APLICAÇÃO NA SAÚDE

2.1 Controle de Qualidade de Plantas Medicinais

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estabelece padrões para o controle de qualidade de plantas medicinais incluindo a classificação, identificação botânica, determinação dos princípios ativos e identificação de contaminantes [12]. No Brasil, a Anvisa estabelece, entre os requisitos necessários para a obtenção de registro de fitoterápicos, a ausência de risco tóxico ao usuário e ausência de grupos ou substâncias químicas tóxicas, ou presença dentro de limites comprovadamente seguros [13].

A eficácia e a segurança do uso de plantas medicinais dependem de diversos fatores como coleta, cultivo e armazenamento; sendo que tais fatores podem influenciar na qualidade do produto, podendo ainda, ocasionar problemas de saúde à população [14].

A necessidade de assegurar o controle de qualidade nos produtos à base de plantas medicinais ocorre devido ao crescimento da poluição ambiental que afeta diretamente as plantas, que podem acumular certos tipos de elementos tóxicos ou não, tornando de grande importância pesquisas que determinem a concentração de elementos maiores, menores e traços devido a sua presença em processos metabólicos humanos [15].

Entre as 66 espécies catalogadas para pesquisa e comercialização pela Anvisa, nesta revisão encontram-se 58 espécies de plantas medicinais, sendo essas: *Achillea millefolium* L. (aquileia), *Achyrocline satureioides* Lam. DC. (macela), *Aesculus hippocastanum* L. (castanha-da-índia), *Ageratum conyzoides* L. (mentrasto), *Allium sativum* L. (alho), *Anacardium occidentale* L. (cajueiro), *Arctium lappa* L. (bardana), *Arnica erbená* L. (arnica), *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja), *Bidens pilosa* L. (picão preto), *Calendula officinalis* L. (calendula), *Caesalpinia erben* Mart. ex Tul. (pau-ferro), *Casearia sylvestris* Sw. (guaçatonga), *Cinnamomum verum* J. Presl. (canela), *Citrus aurantium* L. (laranja amarga), *Cordia erbenácea* DC. (erva-baleeira), *Curcuma longa* L. (açafraão-da-terra), *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (capim-limão), *Echinodorus macrophyllus* (Kunth) Micheli (chapéu-de-couro), *Equisetum arvense* L. (cavalinha), *Erythrina verna* Vell. (mulungu), *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto), *Eugenia uniflora* L. (pitanga), *Glycyrrhiza glabra* L. (alcaçuz), *Hamamelis virginiana* L. (hamamélis), *Harpagophytum procumbens* (Burch.) DC. ex Meisn (garra-do-diabo), *Illicium verum* Hook F. (anis estrelado), *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta), *Malva sylvestris* L. (malva), *Matricaria recutita* L. (camomila), *Maytenus ilicifolia*

Mart. ex Reissek (espinheira-santa), *Melissa officinalis* L. (melissa), *Mentha × piperita* L. (hortelã-pimenta), *Mentha pulegium* L. (poejo), *Mikania glomerata* Spreng (guaco), *Momordica charantia* L. (melão-de-São-Caetano), *Passiflora alata* Curtis (maracujá-doce), *Passiflora incarnata* L. (maracujá), *Paullinia cupana* Kunth (guaraná), *Peumus boldus* Molina (boldo-do-Chile), *Phyllanthus niruri* L. (quebra-pedra), *Pimpinella anisum* L. (erva-doce), *Plantago major* L. (tanchagem), *Polygonum punctatum* Elliot (erva-de-bicho), *Psidium guajava* L. (goiaba), *Punica granatum* L. (romã), *Rhamnus purshiana* DC. (cáscara sagrada), *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), *Salvia officinalis* L. (sálvia), *Sambucus nigra* L. (sabugueiro), *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira), *Senna alexandrina* Mill. (sene), *Solanum paniculatum* L. (jurubeba), *Stryphnodendron adstrigens* (Mart.) Coville (barbatimão), *Taraxacum officinale* F. H. Wigg (dente-de-leão), *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roem. & Schult.) DC. (unha-de-gato), *Vernonia polyanthes* Less. (assa-peixe) e *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre). As amostras foram adquiridas em farmácias especializadas, casas de produtos naturais, mercado informal, ou seja, banca localizada em via pública provenientes do Estado de São Paulo (SP), Minas Gerais (MG), Paraná (PR), Pernambuco (PE), Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC), Itália (IT) e Alemanha (AL) e algumas espécies foram cultivadas [16-18].

2.2 Medidas por Análise por Ativação Neutrônica Instrumental

A determinação das concentrações dos elementos nas plantas medicinais deste estudo foi realizada nas amostras da planta seca. As concentrações de As, Ba, Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, Hf, K, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Ta, Th, Ti, U, V, Zn e Zr foram determinadas por Análise de Ativação Neutrônica Instrumental (INAA). INAA é uma técnica analítica sensível, rápida, não destrutiva e multielementar, que tem sido frequentemente usada para avaliar o conteúdo inorgânico em plantas medicinais nas pesquisas realizadas no IPEN [19-22].

Para as determinações, foram realizadas duas séries de irradiação, de acordo com o tempo de decaimento de cada radionuclídeo de interesse, formado nas amostras. Para a determinação dos elementos As, Ba, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, Hf, K, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Ta, Th, U, Zn e Zr foram pesados de 100 a 150 mg de amostra vegetal e 100 mg dos materiais de referência¹ e também padrões sintéticos provenientes de solução-padrão (SPEX CERTIPREP). Estas amostras

¹ IAEA-336 Líquen, NIST 1573a Tomato Leaves, NIST 1547 Peach Leaves, NIST 1646a Estuarine Sediment, USGS STM-2 Table Mountain Syenite, RGM-2 Rhyolite Glass Mountain.

² NIST 1573a Tomato Leaves, NIST 1547 Peach Leaves, NIST 1646a Estuarine Sediment.

foram irradiadas sob um fluxo de nêutrons térmicos de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ por oito horas (irradiação longa).

Para determinação de Cl, Mg, Mn, Ti e V, aproximadamente 70 mg de amostra vegetal e 50 mg dos materiais de referência² foram irradiadas na instalação pneumática com um fluxo de nêutrons térmicos de aproximadamente $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ por vinte segundos (irradiação curta).

Após a irradiação esperou-se um período de decaimento que varia em função da meia-vida do nuclídeo a ser determinado. A detecção dos raios gama emitidos pelos nuclídeos formados na irradiação foi feita usando como sistema de contagem um detector de Ge-Hiperpuro, marca EG&G Ortec e equipamentos eletrônicos associados, com resolução de 0,88 keV e 2,09 keV para os picos de 122 keV e 1332 keV do ⁵⁷Co e ⁶⁰Co, respectivamente. A análise dos espectros obtidos foi realizada utilizando o software VISPECT2 na linguagem TURBOBASIC. Para as irradiações longas, o tempo de contagem das amostras vegetais variou de uma a duas horas, para os materiais de referência, de trinta minutos a uma hora e de quinze minutos a uma hora para os padrões pipetados sintéticos. Para as irradiações curtas, as contagens foram feitas durante três minutos para as amostras de planta e dois minutos para os materiais de referência e padrões sintéticos.

A precisão e a exatidão da metodologia foram avaliadas pela análise dos materiais de referência certificados. O desvio padrão relativo (DPR) e o erro relativo (ER) variaram conforme apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Variação do desvio-padrão relativo (DPR) e erro relativo (ER) para os materiais de referência certificados

| | SRM 1646a | USGS STM | NIST 1547 | NIST 1573a | IAEA-336 |
|---------|-----------|------------|-----------|------------|----------|
| DRP (%) | 0,7 a 26 | 0,8 a 18 | 1 a 37 | 4 a 41 | 0,9 a 38 |
| ER (%) | 0,2 a 47 | 0,001 a 31 | 1 a 38 | 2 a 40 | 1 a 39 |

De modo geral, as concentrações encontradas nos materiais de referência, por meio da técnica de INAA, estiveram próximas dos valores certificados ou informados. Os erros relativos foram, em geral, inferiores a 20%, para a maioria dos elementos. Considerando-se os níveis de concentração a que estão relacionados, pode-se verificar que foram obtidas boas precisão e exatidão para a maioria dos elementos estudados.

2.2.1 Composições multielementares das plantas

Dentre os elementos determinados nestes trabalhos, apenas o arsênio (As) apresenta limite estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) [12] em plantas utilizadas como matéria-prima, na concentração de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$. Foram encontradas concentrações mensuráveis de As nas amostras de mulungu, alecrim-pimenta, melissa guaraná, quebra-pedra, goiaba, romã, alecrim, sene, dente-de-leão e gengibre, porém abaixo do limite recomendado. As amostras de melissa proveniente do cultivo (variação de $0,33$ a $1,65 \text{ mg kg}^{-1}$) [18] e de Minas Gerais (variação de $0,93$ a $2,01 \text{ mg kg}^{-1}$) [17] excederam os valores estabelecidos pela OMS.

Os elementos Ca, K, Mg e Cl são essenciais para as plantas e foram os que apresentaram maior concentração nas espécies estudadas. A concentração de cálcio variou de 347 a 23795 mg kg^{-1} , o potássio variou de 113 a 81850 mg kg^{-1} , o magnésio variou do limite mínimo de detecção (LID) a 11379 mg kg^{-1} e o cloro variou de LID a 18480 mg kg^{-1} .

Nas espécies analisadas foram encontrados quantidades significativas de microelementos essenciais e não essenciais, como Ba (4 a 242 mg kg^{-1}), Br ($1,66$ a $127,9 \text{ mg kg}^{-1}$), Co ($0,069$ a $9,1 \text{ mg kg}^{-1}$), Cr ($0,5$ a 256 mg kg^{-1}), Cs ($0,01$ a $4,29 \text{ mg kg}^{-1}$), Fe (26 a 12259 mg kg^{-1}), Mn ($2,4$ a 1046 mg kg^{-1}), Na (8 a 7718 mg kg^{-1}), Se ($0,15$ a $0,8 \text{ mg kg}^{-1}$), V ($0,08$ a $8,2 \text{ mg kg}^{-1}$) e Zn ($7,4$ a 169 mg kg^{-1}). A concentração média de Hf, Rb, Sb, Sc, Ta, Th, Ti, U e Zr foi de $0,38$; 32 ; $0,02$; $0,11$; $0,04$; $0,25$; 100 ; $0,28$ e 38 mg kg^{-1} , respectivamente.

3. CONCLUSÕES

Nesta revisão foram apresentados os resultados dos trabalhos realizados no Reator IEA-R1, os quais determinaram a constituição inorgânica de 58 plantas de uso medicinal. As espécies que apresentaram concentrações relativamente altas foram poejo, dente-de-leão, malva, *salvia*, maracujá, e menstrato; enquanto foram encontradas baixas concentrações no alho, *calêndula*, guaçatonga, canela, laranja-amarga, alcaçuz, anis-estrelado, espinheira-santa, folha-de-goiaba e romã. A Análise por Ativação Neutrônica apresentou sensibilidade adequada para a determinação das concentrações para a maior parte dos elementos presentes nas amostras de plantas. As determinadas realizadas nas amostras apresentadas podem servir como indicativo do grau de contaminação das plantas medicinais, no caso de elementos potencialmente tóxicos, como indicativo da capacidade dessas plantas

de atuarem como suplementos alimentares de elementos essenciais e podem ser relacionadas a produção de metabólitos secundários em plantas de valor medicinal.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo suporte financeiro (Processos nº 141977/2012-4, 2011/06768-2 e 2011/06827-9) e ao IPEN-CNEN/SP.

REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. *Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos*. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde). Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf.
2. SENESI, N. Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Science of Total Environment*, v. 123-124, p.63-76, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(92\)90133-D](https://doi.org/10.1016/0048-9697(92)90133-D).
3. TAVARES, T. M.; CARVALHO, F. M. Avaliação da exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do Recôncavo Baiano. *Química Nova*, v. 15, n. 2, p.147-153, 1992.
4. SKIPPERUD, L.; SALBU, B.; HAGEBØ, E. Transfer, pathways, enrichment and discharge of trace elements in the pulp industry measures by means of neutron activation analysis. *Science of Total Environment*, v. 216, n. 1-2, p.133-146, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(98\)00146-6](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00146-6).
5. CARVALHO, M. L. *et al.* Trace elements in human cancerous and healthy tissues: a comparative study by EDXRF, TXRF, synchrotron radiation and PIXE. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 62, n. 9, p. 1004-1011, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2007.03.030>.
6. SINGH, V.; GARG, A. N. Availability of essential trace elements in ayurvedic Indian medicinal herbs using instrumental neutron activation analysis. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 48, n. 1, p.97-101, 1997. DOI: 10.1016/s0969-8043(96)00043-7.
7. DIACONU, D.; DIACONU, R.; NAVROTESCU, T. Estimation of heavy metals in medicinal plants and their infusions. Universitatii “Ovidius” Constanta. *Seria Chimie*, v. 23, n. 1, p. 115-120, 2012. Disponível em: http://anale-chimie.univ-ovidius.ro/anale-chimie/chemistry/2012/full/19_diaconu.pdf.
8. COBOS, J. Y. G. *Fontes nitrogenadas no crescimento e produção de óleo essencial de espécies de capim-limão*. 2015. 82 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.
9. CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 33, n. 2, p.179- 189, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2000000200004>.
10. FERREIRA, M. O. M.; SATO, I. M.; SALVADOR, V. L. R. Validação da Metodologia analítica na determinação de componentes inorgânicos em plantas medicinais *Valeriana officinalis*, *Ginkgo folium* e *Echunodorus macrophyllus*. In: III CONGRESSO BRASILEIRO

DE METROLOGIA, set. 2003, Recife–PE. *Anais* [...]. 2003.

11. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia homeopática brasileira*. 3ª ed. Brasília, DF, 2011. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-homeopatica/arquivos/8048json-file-1>.

12. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Quality control methods for medicinal plants materials*. Geneva; Switzerland: WHO Press, 1998. 115 p. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41986>.

13. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, 10 mar. 2010.

14. YAMAMOTO, C. H. *et al.* Controle de qualidade microbiológica de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos produzidos na Zona da Mata. In: 2º CONGRESSO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2004. Belo Horizonte–MG. *Anais* [...]. Belo Horizonte: UFMG, 2004.

15. NAIDU, G. R. K. *et al.* Determination of macro, micronutrient and trace element concentrations in Indian medicinal and vegetable leaves using instrumental Neutron Activation Analysis. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 50, n. 5, p. 947-953, 1999.

16. SILVA, P. S. C.; FRANCISCONI, L. S.; GONÇALVES, R. D. M. R., “Evaluation of major and trace elements in medicinal plants. *Journal of the Brazilian Chemistry Society*, v. 27, n. 12, p. 2273-2289, 2016. DOI: 10.5935/0103-5053.20160123.

17. SANTOS, A.; SUSSA, F. V.; SILVA, P. S. C. Estudo da composição elementar de *Melissa officinalis* de diferentes procedências por Análise por Ativação Neutrônica. In: International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2017, 2017, Belo Horizonte. Anais do International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2017, 2017..

18. SUSSA, F. V. *et al.* Agricultural management, season and trace elements effects on volatile oil production from *Melissa officinalis* L. (Lemon balm). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 307, p. 2365-2371, 2016.

19. YAMASHITA, C. I.; SAIKI, M.; SERTIE, J. A. A. Elemental analysis of leaves and extracts of *Casearia* medicinal plants by Instrumental Neutron Activation Analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 270, n. 1, p. 181-186, 2006.

20. SUSSA, F. V. *et al.* Radioactive and stable elements’ concentration in medicinal plants from Brazil. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 281, n.2, p.165-170, 2009.

21. YAMASHITA, C. I. *et al.* Characterization of trace elements in *Casearia* medicinal plant by neutron activation analysis. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 63, p. 841-846, 2005.

22. SAIKI, M.; VASCONCELOS, M. B.; SERTIE, J. A. A. Determination of inorganic components in Brazilian medicinal plants by neutron activation analysis. *Biological Trace Element Research*, v. 26-27, p.743-750, 1990. DOI: 10.1007/BF02992731.