

Talinum patens :
**Análise por ativação neutrônica instrumental
e prospecção fitoquímica**
Daniel Crístian Ferreira Soares

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais- Radioquímica

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA NUCLEAR
Programa de Pós-Graduação em ciência e tecnologia das radiações minerais e materiais

Talinum patens:
**ANÁLISE POR ATIVAÇÃO NEUTRÔNICA
INSTRUMENTAL E PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA**

DANIEL CRÍSTIAN FERREIRA SOARES

**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Ciência e Tecnologia das Radiações
Minerais e Materiais - Radioquímica**

Orientadora: Prof. Dra. Ester Figueiredo de Oliveira
Co-orientadora: Prof. Dra. Grácia Divina de Fátima Silva

BELO HORIZONTE

2005

“Nos campos da observação, o acaso favorece apenas as mentes preparadas.”

Louis Pasteur

Sumário

Lista de Figuras	5
Lista de Tabelas	7
Abreviaturas, siglas e símbolos	8
Agradecimentos	9
Resumo	10
Abstract.....	11
1 – Introdução	12
2 – Características de <i>Talinum patens</i>	17
2.1 Características da família Portulacaceae	17
3 – Objetivos.....	20
4 – Metabolismo secundário e utilização de metais pelas plantas.....	21
4.1 – Principais famílias de metabólitos secundários	22
4.1.1 – Derivados do ácido xiquímico	22
4.1.2 – Ácidos graxos e derivados	23
4.1.3 – Ceras	23
4.1.4 – Compostos fenólicos e derivados	24
4.1.5– Terpenóides	26
4.1.6 – Alcalóides	27
4.2 - A utilização de metais pelas plantas.....	28
5 – Análise por ativação neutrônica instrumental (INNA)	34
5.1 – Considerações gerais	34
5.2 – Metodologia da técnica.....	38
5.3 – Características e aplicações da técnica	40

6 – Parte experimental	43
6.1 – Materiais, métodos e instrumentos	43
6.2 – Metodologia da prospecção fitoquímica em <i>Talinum patens</i>	44
6.2.1 – Flavonóides.....	44
6.2.2 – Alcalóides	44
6.2.3 – Cumarinas.....	44
6.2.4 – Saponinas.....	45
6.2.5 – Polifenóis e taninos.....	45
6.2.6 – Tripernos /esteróides.....	45
6.3 – Metodologia de irradiação das amostras	46
6.4 – Preparo do material botânico e amostras.....	47
6.5 – Simbologia adotada para identificação de amostras.....	48
6.6 – Extração em folhas de <i>Talinum patens</i>	49
6.7 – Extração em caules de <i>Talinum patens</i>	50
6.8 – Extração em raízes de <i>Talinum patens</i>	51
7 – Resultados e discussões	52
7.1 – Resultados de AANI em folhas “in natura” e extratos	52
7.1.1 – Dispersão dos resultados de AANI em folhas “in-natura” e extratos.....	53
7.1.2 – Prospecção fitoquímica em folhas “in-natura” e extratos	54
7.2 – Resultados de AANI em caules “in-natura” e extratos.....	60
7.2.1 – Dispersão dos resultados de AANI em caules “in-natura” e extratos	61
7.2.2 – Prospecção fitoquímica em caules “in-natura” e extratos	62
7.3 – Resultados de AANI em raízes “in-natura” e extratos	65
7.3.1 – Dispersão dos resultados de AANI em raízes “in-natura” e extratos	66
7.3.2 – Prospecção fitoquímica em raízes “in-natura” e extratos.....	67
7.4 – Diversidade nos extratos das partes de <i>Talinum patens</i>	70
8 – Conclusão e perspectivas	71
9 – Referências bibliográficas	72
10 – Apêndice A – Análise de materiais certificados	75
11 – Apêndice B – Tratamento estatístico dos dados e gráficos	79

Lista de figuras

2 – Características de *Talinum patens*

Figura 2.1 – Fotografias de folhas, frutos, raízes e flores de *Talinum patens* 18

4 –Metabolismo secundário e utilização de metais pelas plantas

Figura 4.1 – Ácido xiquímico, precursor de vários metabólitos secundários em plantas 22

Figura 4.2 – Unidade constitutiva de taninos condensados..... 22

Figura 4.3 – Exemplo de obtenção de um poliacetileno..... 23

Figura 4.4 – Formas de mobilização de metais por meio da redução ou formação de substâncias queladas 29

Figura 4.5 – Redução de íon Fe^{+3} por meio de ácido caféico, um metabólito secundário 29

Figura 4.6 – Relação entre concentração de minerais e produção de matéria seca..... 30

Figura 4.7 – Valores de pH do solo sobre a mobilização de disponibilidade de metais. 31

5 – Análise por ativação neutrônica instrumental

Figura 5.1 – Esquema de ativação por nêutrons..... 35

Figura 2.2 – Variação da energia dos nêutrons em função do seu fluxo 37

6 – Parte Experimental

Figura 6.1 – Fluxograma de extração em folhas de *Talinum patens* 49

Figura 6.2 – Fluxograma de extração em caules de *Talinum patens*..... 50

Figura 6.3 – Fluxograma de extração em raízes de *Talinum patens* 51

7 – Resultados e discussões

Figura 7.1 – Dispersão de resultados “in natura” e extratos de folhas de *Talinum patens* 53

Figura 7.2 – Estrutura da hipericina 56

Figura 7.3 – Estrutura da nonacosanoato de nonacosila 57

Figura 7.4 – Estrutura do β -sitosterol glicosilado e Estigmasterol.....	58
Figura 7.5 – Fórmula geral do esqueleto carbônico para flavonóides.....	58
Figura 7.6 – Dispersão de resultados “in natura” e extratos de caules de <i>Talinum patens</i>	61
Figura 7.7 – Estruturas dos ácidos heneicosanóico e 3 β -acetil-aleurítico.....	63
Figura 7.8 – Espectro no Infravermelho para S1	64
Figura 7.9 – Dispersão de resultados “in natura” e extratos de raízes de <i>Talinum patens</i>	66
Figura 7.10 – Gráfico da diversidade dos elementos em relação aos diferentes extratos	70

10 – Apêndice A - Análise de materiais certificados

Figura 10.1 – Gráfico das concentrações determinada comparadas ao GBW07602.....	76
Figura 10.2 – Gráfico das concentrações determinada comparadas ao GBW07603.....	77
Figura 10.3 – Gráfico das concentrações determinada comparadas ao 1573a tomato leaves.....	78

11- Apêndice B – Tratamento estatístico dos dados e gráficos

Figura 11.1 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPIN.....	79
Figura 11.2 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPEH	80
Figura 11.3 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPEAE.....	81
Figura 11.4 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPEE	82
Figura 11.5 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPEA	83
Figura 11.6 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPIN.....	84
Figura 11.7 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPEH.....	85
Figura 11.8 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPEAE	86
Figura 11.9 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPEE	87
Figura 11.10 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPEA.....	88
Figura 11.11 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra RTPIN.....	89
Figura 11.12 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra RTPEH.....	90
Figura 11.13 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra RTPEAE	91
Figura 11.14 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra RTPEE	92
Figura 11.15 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra RTPEA.....	93

Lista de tabelas

2 – Características de *Talinum patens*

Tabela 2.1 – Taxonomia vegetal.....	17
-------------------------------------	----

4 –Metabolismo secundário e utilização de metais pelas plantas

Tabela 4.1– Principais compostos fenólicos e respectivas estruturas	24
Tabela 4.2 – Classes de terpenóides	26
Tabela 4.3 – Classes de Alcalóides	27
Tabela 4.4 – Concentração de metais em plantas e solo	33

5 – Análise por ativação neutrônica instrumental

Tabela 5.1 – Aplicações da análise por ativação neutrônica	42
--	----

7 – Resultados e discussões

Tabela 7.1 – Resultado da análise por AANI em folhas e extratos	52
Tabela 7.2 – Resultados da prospecção fitoquímica em folhas e extratos	54
Tabela 7.3 – Resultado da análise por AANI do extrato aquoso não sequencial de folhas.....	59
Tabela 7.4 – Resultados da análise por AANI em caules e extratos.....	60
Tabela 7.5 – Resultados da prospecção fitoquímica em caules e extratos.....	62
Tabela 7.6 – Resultados da análise por AANI em raízes e extratos.....	65
Tabela 7.7 – Resultados da prospecção fitoquímica raízes e extratos.....	67

10 – Apêndice A - Análise de materiais certificados

Tabela 10.1 – Análise do material de referência certificado – GBW07602	76
Tabela 10.2 – Análise do material de referência certificado – GBW07603.....	77
Tabela 10.3 – Análise do material de referência certificado – 1573a tomato leaves.....	78

11- Apêndice B – Tratamento estatístico dos dados e gráficos

Tabela 11.1 – Resultado da análise por AANI em FTPIN.....	79
Tabela 11.2 – Resultado da análise por AANI em FTPEH	80
Tabela 11.3 – Resultado da análise por AANI em FTPEAE.....	81
Tabela 11.4 – Resultado da análise por AANI em FTPEE	82
Tabela 11.5 – Resultado da análise por AANI em FTPEA	83
Tabela 11.6 – Resultado da análise por AANI em CTPIN.....	84
Tabela 11.7 – Resultado da análise por AANI em CTPEH	85
Tabela 11.8 – Resultado da análise por AANI em CTPEAE	86
Tabela 11.9 – Resultado da análise por AANI em CTPEE	87
Tabela 11.10 – Resultado da análise por AANI em CTPEA	88
Tabela 11.11 – Resultado da análise por AANI em RTPIN	89
Tabela 11.12 – Resultado da análise por AANI em RTPEH.....	90
Tabela 11.13 – Resultado da análise por AANI em RTPEAE.....	91
Tabela 11.14 – Resultado da análise por AANI em RTPEE	92
Tabela 11.15 – Resultado da análise por AANI em RTPEA.....	93

Abreviaturas siglas e símbolos

$\bar{\nu}$	Número de ondas (Cm^{-1})
μg	Micrograma
λ	Comprimento de onda
mg	Miligrama
MeOH	Metanol
L	Litro
IV	Infravermelho
INNA	<i>Instrumental Neutron Activation Analysis</i>
g	Grama
eV	Eletronvolt
EtOH	Etanol
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
HIV	<i>Human immunodeficiency vírus</i>
WHO	<i>World health organization</i>
CCD	Cromatografia em camada delgada
AcOEt	Acetato de etila
HOAc	Ácido acético
UV	Ultravioleta
HPGe	<i>High Pure Germanium</i>
FWHM	<i>Full Width - Half Maximum</i>
OPS	Organização Pan-americana de saúde
IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
NEPLAM	Núcleo de Estudo de Plantas Medicinais
ICEx	Instituto de Ciências Exatas
AAN	Análise por ativação Neutrônica
NIST	<i>National Institute of Standard and Technology</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
ATP	<i>Adenosina trifosfato</i>
ADP	<i>Adenosina difosfato</i>

Abreviaturas siglas e símbolos

AANI	Análise por ativação neutrônica instrumental
COLOR	<i>Colorimetry</i>
CVAAS	<i>Cold-vapor atomic absorption spectrometry</i>
FAES	<i>Flame atomic emission spectrometry</i>
FIA-HAAS	<i>Flow injection-hydride generation atomic absorption spectrometry</i>
ICP-AES	<i>Inductive-coupled plasma atomic emission spectrometry</i>
ID-ICPMS	<i>Isotope dilution, inductively coupled plasma mass spectrometry</i>
ID-TIMS	<i>Isotope dilution, thermal ionization mass spectrometry</i>
KJEL	<i>Kjeldal nitrogen determination</i>
LEAFS	<i>Laser-excited atomic fluorescence spectrometry</i>
PGAA	<i>Prompt gamma activation analysis</i>
RNAA	<i>Radiochemical neutron activation analysis</i>
FTPIN	Folhas de <i>Talinum patens</i> “in natura”
FTPEH	Extrato em hexano das folhas de <i>Talinum patens</i> ,
FTPEAE	Extrato em acetato de etila das folhas de <i>Talinum patens</i> ,
FTPEE	Extrato em etanol das folhas de <i>Talinum patens</i> ,
FTPEA	Extrato aquoso das folhas de <i>Talinum patens</i> ,
CTPIN	Caules de <i>Talinum patens</i> “in natura”
CTPEH	Extrato em hexano dos caules de <i>Talinum patens</i> ,
CTPEAE	Extrato em acetato de etila dos caules de <i>Talinum patens</i> ,
CTPEE	Extrato em etanol dos caules de <i>Talinum patens</i> ,
CTPEA	Extrato aquoso dos caules de <i>Talinum patens</i> ,
RTPIN	Raízes de <i>Talinum patens</i> “in natura”
RTPEH	Extrato em hexano das raízes de <i>Talinum patens</i> ,
RTPEAE	Extrato em acetato de etila das raízes de <i>Talinum patens</i> ,
RTPEE	Extrato em etanol das raízes de <i>Talinum patens</i> ,
RTPEA	Extrato aquoso das raízes de <i>Talinum patens</i> ,

Agradecimentos

Primeiramente a Deus pelas oportunidades criadas em minha vida. Minha esposa Aline Assis Barros e aos meus pais e irmão pelo constante apóio e dedicação.

Ao Professor Marcelo Moreira Britto, que me aceitou como estagiário de iniciação científica, abrindo as portas para a pesquisa científica.

À orientadora e professora Dra. Ester Figueiredo de Oliveira pelo constante acompanhamento, luta em prol deste trabalho, persistência, paciência e correções.

À co-orientadora professora Dra. Grácia Divina de Fátima Silva pelo aceite de minha co-orientação, contribuições, dedicação, sem os quais, seria impossível a realização deste trabalho. Agradeço ainda pelas correções e uso de seus laboratórios no departamento de química da UFMG.

Ao professor Dr. Sidney Augusto Vieira Filho (“BIBO”) pelo incentivo, estímulo e constante disponibilidade para auxiliar e apoiar. Gostaria de agradecer também imensamente pelo apóio e orientações durante o estágio de docência realizado na UFOP.

À professora Dra. Lucienir Pains Duarte “Lú” pelos conselhos, orientações e amizade.

À Professora Dra. Maria Ângela de Barros Corrêa Menezes por todo apoio, conselhos e orientações sempre incondicionais e alegres. Agradeço pelo acesso ao laboratório de Radioquímica e uso de equipamentos.

À Maria Ângela Amaral e aos operadores do reator nuclear pela constante e inestimável contribuição às irradiações e contagens.

Ao professores Dr. Fernando Soares Lameiras, por apoio e orientações durante a realização deste trabalho, Prof. Dr. Javier Francisco Rios pela pré-orientação e conselhos.

Aos colegas de pós-graduação, Eduardo Martins Nunes, Kássio André Lacerda, Djalma Menezes de Oliveira, Frederico Nunes Valladão, Roqueline Rodrigues Silva de Miranda, Silvia Souza pelo companheirismo e apoio.

A secretária Vânia, ao Sr. Machado e demais colegas do CDTN que contribuíram enormemente para a realização e conclusão deste trabalho.

Gostaria de expressar um agradecimento especial ao colegiado de pós-graduação do CDTN, pelo meu aceite como aluno do curso e outras contribuições preciosas para a minha formação acadêmica.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Resumo

O uso de plantas para a cura de males é um conhecimento milenar, sendo constituinte importante para a formação das bases da medicina atual. Atualmente 25% de todas as drogas mais prescritas no mundo advêm de plantas e o mercado chega a dois bilhões de dólares. As pesquisas na área de produtos naturais dependem da integração de diversas áreas, sendo, portanto multidisciplinar. As principais áreas envolvidas são a botânica, a química, farmacologia incluindo a toxicologia, bem como o emprego de avançadas técnicas analíticas.

Em decorrência dessa integração surgiu a análise elementar em plantas como alvo de pesquisas pelo mundo, já que muitos desses elementos químicos participam dos constituintes ativos responsáveis pelas propriedades curativas. Estes constituintes ativos, em sua maior parte advêm do metabolismo secundário das plantas e são chamados de metabólitos secundários. Assim buscar relações entre a composição química elementar e os produtos de metabolismo secundário é etapa fundamental na compreensão das ações terapêuticas e curativas das plantas. Neste contexto a planta *Talinum patens* da família *portulacaceae* é utilizada pela cultura popular no tratamento de feridas e cortes, problemas gastrintestinais, edemas, coceiras, fadigas e cansaço mental. As folhas são utilizadas como hortaliças em alimentação humana. Com o objetivo de contribuir na elucidação das relações entre composição química elementar e metabólitos secundários da planta *Talinum patens*, realizou-se prospecção fitoquímica e análise por ativação neutrônica instrumental de amostras “in-natura” e amostras de extratos preparados com solventes de polaridade crescente.

Os resultados mostraram tendência de concentração de certos elementos químicos em determinados extratos em detrimento de outros, evidenciando que a composição química elementar encontra-se interagida ou ligada a diferentes moléculas extraídas. Foi possível ainda avaliar as contribuições nutricionais das formas populares de uso e os resultados sugerem estudos epidemiológicos.

Abstract

The use of plants for many diseases treatment is a millenary knowledge. These are the great importance for the formation of actual medicine bases. Actually, more than 25 % of the all drugs prescribed in the world are obtained from plants. The medicinal plants and other vegetable materials market reach to around two billions dollars. The researches of natural products depend on different scientific areas integration, therefore with multidisciplinary aspects. The mainly areas involved in these researches are botany, chemistry, pharmacology, and toxicology. In all cases are necessary the use of advanced analytical techniques.

From the integration of these different areas appears the use of elemental analysis to determine the presence of some inorganic elements other than hydrogen, carbon and oxygen in plants. This analyze became a target of many researches because chemical elements are components of biologically active compounds, including those with curative properties. The bigger part of these active compounds, called secondary metabolites, is derived from the secondary plant metabolism. Than, search relations between chemical element composition and secondary metabolites represents fundamental step to understand the therapeutic actions of curative plants. Inserted in these context, *Talinum patens* of the Portulacaceae family is popularly used by the Patos de Minas peoples, for the cuts and wounds treatment, gastrointestinal problems, edemas, body and mental fatigue. The leaves of this plant are used in salads in human nutrition. To contribute for the relationships between elemental composition and secondary metabolites, the *T. patens* was submitted to phytochemical and elemental analyses. The phytochemical studies employed extraction methods using solvent of different polarity as well as chromatographic techniques. For the elemental analyses was used instrumental neutron activation analysis (INAA).

The results showed a chemical elemental concentration tendency in some extract relatively to others. The data obtained demonstrated that elemental chemicals are included in the structure of molecules encountered in the extracts. It was possible evaluate the nutrition contributions for the popular use forms. The results suggests a realization of epidemiological study to verify the real nutrition contribution and/or undesirable effects of *Talinum patens*.

1- Introdução

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do mundo, contando com um número estimado de mais de 20% do número total de espécies do planeta. Somos donos da maior diversidade genética vegetal: são cerca de 55.000 espécies catalogadas num total estimado entre 350.000 e 550.000 espécies. O Brasil possui um imenso potencial genético a ser explorado e estima-se que esse patrimônio vegetal represente cerca de 16,5 bilhões de genes (PINTO, 2002).

O uso de plantas na cura para males e doenças é um conhecimento tradicional, datado de centenas de anos. Ao procurar plantas para o seu sustento e alimentação, o homem, desde a pré-história, descobriu espécies de plantas com ação tóxica ou medicinal, construindo assim um conhecimento empírico das suas ações medicinais. Os homens se alimentavam de determinadas plantas pelo instinto de sobrevivência e observavam que algumas tinham efeitos de minimização de enfermidades. O acúmulo das informações sobre os efeitos das plantas nos organismos levou ao nascimento da cultura da arte de curar, que pode ser considerada a base para o nascimento da medicina. A indicação principal de fitoterápicos na medicina não é a da substituição de medicamentos comumente comercializados, mas de promover um crédito nas opções terapêuticas. Outro objetivo a ser considerado, seria a valorização dos saberes e tradições populares. De acordo com a Organização Pan-Americana de Saúde – OPS (ARIAS, 1999) uma planta medicinal é qualquer planta usada para reabilitar, prevenir ou curar uma doença ou alteração de processos patológicos e fisiológicos ou qualquer planta empregada com uma fonte de drogas e como precursores destas.

Seguindo as recomendações da Organização Mundial da Saúde, podemos definir remédio, como sendo um produto preparado de acordo com procedimentos e técnicas legalizadas cientificamente e usado com o objetivo de diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças, caracterizados em termos de sua eficácia, segurança e qualidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992). Droga refere-se ao composto farmacologicamente ativo, o qual é componente de um remédio, independentemente se tem origem natural ou sintética.

De acordo com Godinho et al., 2003:

“A planta medicinal utilizada em medicamentos é um xenobiótico, isto é, um produto estranho ao organismo humano, nele introduzido com finalidades terapêuticas. Como todo corpo estranho, os produtos de sua biotransformação são potencialmente tóxicos e assim devem se encarados até prova em contrário. De fato, não há porque, a priori, considerar inócua uma planta medicinal, se do reino vegetal são obtidas substâncias extremamente tóxicas como a estricnina, digitoxina e os heterosídeos cianogênicos”.

Estima-se que 60% das drogas antitumorais e drogas anti-infecciosas vendidas no mercado sejam formuladas a partir de produtos naturais, e sua fabricação por meios sintéticos é inviável. No ano de 1997, o mercado mundial de produtos fitoquímicos movimentou cifras da ordem de 10 bilhões de dólares americanos, com um crescimento anual de cerca de 6,5% (SOLDATI, 1997). Somente na América do norte, no ano de 1997, o mercado chegou a 2 bilhões de dólares americanos (BREVOORT, 1997). Atualmente, aproximadamente 25% de todas as drogas prescritas em todo o mundo advêm de plantas. No ano de 1999, das 252 drogas consideradas como básicas e essenciais pela Organização Mundial de Saúde, 11% são exclusivamente de origem vegetal e um número substancial de drogas sintéticas são produzidas utilizando-se de precursores naturais.

O *National Cancer Institute* (NCI) nos Estados Unidos testou cerca de 50 mil amostras vegetais com o objetivo anti-HIV e cerca de 33 mil amostras com o objetivo antitumoral. De cerca de 250 mil a 500 mil espécies de plantas, somente uma pequena porcentagem, cerca de 5 mil espécies, foi investigada fitoquimicamente. Cada nova droga necessita de um investimento da ordem de 100 a 360 milhões de dólares e um tempo de trabalho em torno de 10 anos. Deste montante somente 1 em cada 10 mil compostos testados é considerado promissor e somente 1 a cada 4 destes, é aprovado como uma nova droga (RATES, 2001). Os medicamentos vegetais até a década de 50 eram nas farmácias quase que exclusivos. Devido ao difícil controle de qualidade físico-químico e toxicológico, estes foram substituídos por medicamentos sintetizados a partir das substâncias ativas extraídas de plantas ou derivações sintéticas.

Diante da situação na qual se encontra a exploração mundial de plantas, aliada aos problemas ambientais, a extinção de espécies é fato certo. Portanto se aplica aí, o desenvolvimento científico, uma vez que este trará o conhecimento do uso e manejo destas de modo racional, possibilitando assim, a sua preservação. As pesquisas na busca de formulações

à bases de produtos naturais dependem da perfeita integração de diversas áreas. A pesquisa é, portanto, multidisciplinares (DE PASQUALE, 1984; VERPOORTE, 1989). As principais ciências envolvidas são a botânica, a química e a farmacologia, incluindo a toxicologia. Recentemente, observa-se uma necessidade de integração de outras áreas do conhecimento, sobretudo no que se refere aos métodos analíticos e espectroscópicos.

Em decorrência desta integração foram encontrados diversos elementos químicos nas plantas como Cr, Zn, Fe, Co, As, Pb e uma parte destes, se apresenta em teores traços ou ultratraços, portanto sua detecção necessita de ferramentas analíticas bem definidas com emprego de técnicas avançadas e criteriosas, bem como investimentos financeiros elevados. Muitos elementos químicos como Co, Fe, Cr participam dos constituintes ativos que são responsáveis pelas propriedades curativas (RAJURKAR; DAMAME, 1997). Pode-se estabelecer uma correlação entre conteúdo elementar e a capacidade curativa pode ser estabelecida. Neste contexto, os avanços nas pesquisas envolvendo a caracterização elementar adquirem fundamental importância, pois abrem perspectivas de procedimentos analíticos de concentração assim aplicabilidade de estudos fitoquímicos e ensaios de atividade biológica para a compreensão das ações farmacológicas da planta. Observa-se na literatura um crescente interesse pela caracterização elementar em especial em teores de traços e ultratraços, uma vez que os compostos ativos das plantas são produtos de metabolismo de suas células onde certos elementos em teores de traço realizam um importante papel neste metabolismo.

Quando se isola uma substância ativa de um extrato vegetal, pode-se excluir compostos com relevante atividade farmacológica. Isto pode ocorrer quando os efeitos não são causados por um simples composto, mas pela combinação de variáveis como sinergismo farmacodinâmico ou influências farmacocinéticas (RATES, 2001). Apesar de as plantas serem autotróficas, estas necessitam de um suprimento contínuo de elementos químicos para desempenhar suas atividades metabólicas. Esses nutrientes são derivados da intemperização do solo, da decomposição da matéria orgânica ou de adubações suplementares (MATTA, 1999).

Certos metais realizam importantes funções na manutenção dos níveis de glicose no sangue e atuam diretamente na liberação de insulina pelas células das Ilhotas de Langerhans, localizadas no pâncreas (KAR; CHOUDHARY; BANDYOPADHYAY, 1999). Como exemplo, íons cálcio, foram detectados em plantas medicinais usadas nos tratamentos de doenças cardiovasculares e estes realizam um importante papel na eletrofisiologia do tecido cardíaco, aumentando as forças das contrações (RAJURKAR; DAMAME, 1997). O Cromo atua como ativador de diversas enzimas no organismo e existem indícios da sua participação

em processos metabólicos no pâncreas humano (PARDESHI; RAJURKAR, 1997). O ferro é perdido diariamente pelo suor, urina e fezes. Para sua reposição é estimada para um adulto, a ingestão de 10 a 20 mg por dia. Níveis anormais desse elemento podem causar doenças como a anemia pela falta ou por excesso, cirrose, diabetes e possíveis paradas cardíacas (REDDY; et al, 1998).

No Brasil apenas dois Centros de Pesquisas utilizam a análise por ativação neutrônica, o Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), em Belo Horizonte e o Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), em São Paulo, ambos pertencem a Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). No Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), o Laboratório de Radioquímica vem realizando uma variedade de procedimentos metodológicos de análise por ativação neutrônica de diversas matrizes, podendo citar como exemplo, água, sedimentos, alimentos, rejeitos industriais, urina, cabelo, soro sanguíneo, unha, minerais-gemas, aço₂, chás caseiros, vegetais, etc.

Centros de pesquisas como o Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares do Estado de São Paulo (IPEN) e o Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), vêm realizando trabalhos envolvendo a caracterização elementar de plantas através da técnica de análise por ativação neutrônica, como exemplo, a *Casearia sylvestris* (Guaçatonga, Guaça, Erva de Largato), *Zingiber officinale* (Gengibre, Gengivre, Mangaratiá), *Stryphnondedron bartiman* (Barbatimão, Uabatimão, Barba de Timão), *Solano lycocarpum* (Fruto do Lobo, Lobeira), *Achyrocline satureoides* DC (Macela, Marcela, Paina), *Citrus aurantium* (Laranja-amarga, laranja-azedada), *Solidago microglossa* (Arnica-do-brasil), *Centella asiatica* (Cairuçu, Pé-de-cavalo). Os resultados desses estudos contribuem para avaliação de potenciais riscos à saúde humana. Apesar da ampla experiência e aplicação alcançada pelas instituições brasileiras, que utilizam a análise por ativação neutrônica, do nosso conhecimento, nessas instituições ainda não foram realizados estudos que visam estabelecer uma correlação entre os elementos químicos e os principais metabólitos secundários presentes nos extratos de plantas medicinais.

Atualmente, observam-se interesses na técnica de fitoremediação, cuja finalidade é de remover ou minimizar substâncias tóxicas do solo e ou água através de vegetais. Neste estudo, a determinação do conteúdo elementar é etapa fundamental para verificação das ações das plantas. Recursos naturais são cada vez mais são ameaçados, resultantes de impactos advindos de atividades antrópicas. As substâncias geradas pelas atividades humanas incluem compostos orgânicos e inorgânicos como hidrocarbonetos, pesticidas e solventes, além de elementos-traço como arsênio, mercúrio, chumbo, cádmio e outros metais provindos de contaminação inorgânica (LENA; et al, 2001). A técnica de fitoremediação surgiu há pelo

menos uma década, no contexto da biotecnologia como método alternativo econômico e de menor impacto negativo ao meio ambiente. No Brasil, pode-se dizer que a busca por metodologias alternativas tende a crescer, como decorrência de exigências sociais e órgãos ambientais. A exploração do potencial de remediar solos e águas contaminados através de plantas tem sido proposta de vários trabalhos por todo o mundo. Diversas plantas têm a capacidade natural de extrair metais do solo ou da água como Cu, Co, Fe, Mo, Mn, Ni e Zn que são considerados nutrientes essenciais a estas (LASAT, 2002). Projetos de fitoremediação vêm sendo desenvolvidos no IPEN, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

2 – Características de *Talinum patens*

2.1 – Características da família *Portulacaceae*

A família *Portulacaceae* é formada por 47 gêneros e 500 espécies de distribuição predominantemente tropical e subtropical. Posição hierárquica da família *Portulacaceae* e da planta *Talinum patens* (L.)Wild pode ser observada pela tabela de taxonomia vegetal abaixo:

Tabela 2.1: Taxonomia vegetal

Reino	<i>Plantae</i>
Divisão	<i>Magnoliophyta</i>
Subdivisão	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Rosopsida</i>
Subclasse	<i>Caryophyllidae.</i>
Super ordem	<i>Caryophyllanae</i>
Ordem	<i>Caryophyllales</i>
Subordem	<i>Portulacineae</i>
Família	<i>Portulacaceae</i>
Gênero	<i>Talinum</i>
Espécie	<i>Talinum patens</i> (L.) Wild

Talinum patens possui folhas suculentas, de disposição espiralada ou oposta cruzada, com flores pequenas e inconspícuas ou com flores grandes e vistosas, reunidas em inflorescências axilares ou em panícula terminal, daí o termo *Talinum*. O nome *Talinum* constitui uma forma latinizada e foi dada à planta por nativos do Senegal. Já o nome *patens* quer dizer paniculada do latim que é a inflorescência em forma de cacho ou espiga (RAMOS, 2003).

Cientificamente a planta é descrita também como *Portulaca paniculata* Jacq, *Portulaca racemosa* L., *Talinum paniculatum* Gaertn e *Talinum roseum* Klotzsch.

A literatura atribui a *Talinum patens* sinonímia: bênção de Deus, major gomes, maria gomes, maria gorda, bredo, língua de vaca, caruru, João Gomes, erva gorda, beldroega grande, beldroega miúda, ora-pro-nóbis miúdo, labrobro, labrobró de jardim, piolhinha, bunda mole, manjogome, carne gorda, mata compadre. Na Indonésia é comumente chamada de “ginseng java” ou “som java”. Na Região de Patos de Minas-MG, é conhecida como “mata compadre”.

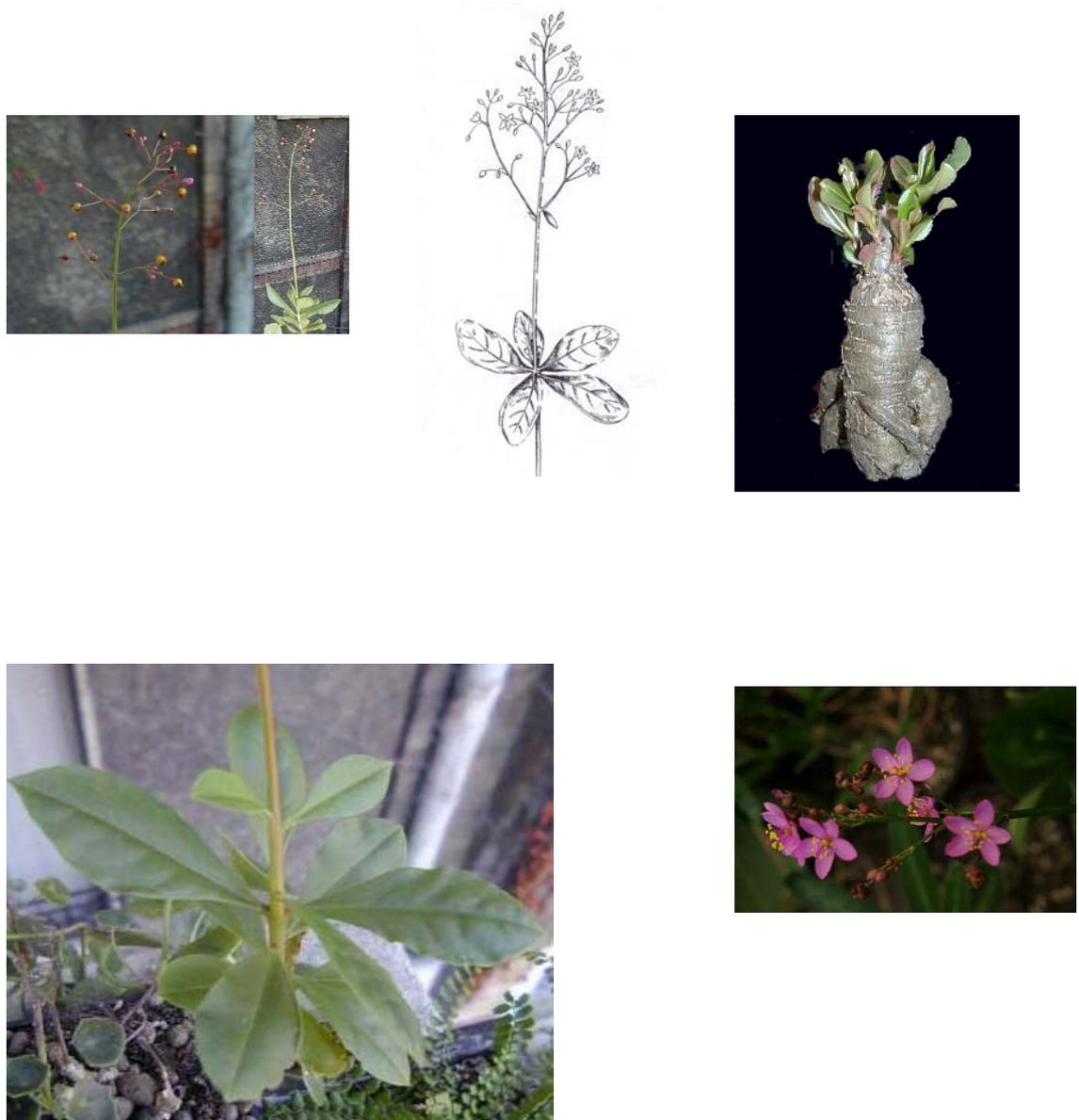


Figura 2.1: Fotografias de folhas e frutos (à esquerda), raízes e flores (à direita) de *Talinum patens*.

A planta alcança até 30 cm de altura, apresenta raiz carnosa e suculenta. As folhas são opostas pecioladas bem carnosas e suculentas de bordo liso. As flores são pequenas, aparecem na extremidade da haste floral, de coloração amarela ou rósea e se abrem somente com a luz do sol. O fruto é uma cápsula globosa e pequena contendo sementes. Tem origem na América Tropical, com ampla distribuição em todos os estados brasileiros. Reproduz-se por sementes, de preferência em solos úmidos, sombrios e com matéria orgânica, crescendo espontaneamente em todo Brasil, principalmente em pomares, cafezais, beira de matas e terrenos baldios. Em outros países, como Estados Unidos, é conhecida e comercializada como planta ornamental. É uma planta invasora e a colheita ocorre a qualquer época do ano (RAMOS, 2003). Possui como principais constituintes: água, mucilagem, taninos, sais minerais, ácido fólico, pigmentos como caroteno e clorofila (PANIZZA, 1998).

A planta foi identificada pela botânica professora Dra Maria Cristina Teixeira Braga Messias e uma exsicata de *Talinum patens* encontra-se depositada no Herbário José Badini da Universidade Federal de Ouro Preto com número de catálogo 17.465.

Talinum patens apresenta propriedades terapêuticas principalmente como emoliente. Folhas e sementes são indicadas no tratamento tópico de feridas e cortes favorecendo a regressão e a cicatrização (CARIBÉ; CAMPOS, 1991). Tem sido observado o uso popular de *Talinum patens* no tratamento de problemas gastrintestinais, urinas com mau cheiro, edemas, infecções intestinais, fraqueza em geral como fadigas, cansaço físico e mental, debilidade orgânica e afecções da pele como pruridos intensos, coceiras, eczemas, e erisipela. O decocto das raízes é indicado no tratamento de escorbuto e as folhas da planta são mencionadas como hortaliça para alimentação humana (MARTINS; et al, 2000). Na China, leste da Ásia e alguns países da América do Sul, as raízes desta planta são usadas como tônico para homens e na cura da pneumonia.

3 – Objetivos

Em parceria com o Núcleo de Estudo de Plantas Medicinais, NEPLAM – ICEX, UFMG, neste trabalho objetivou-se caracterizar a composição química elementar de folhas, caules e raízes da planta *Talinum patens* (*Potulacaceae*), relacionado-a aos metabólitos secundários presentes nessas partes. Para atingir tais objetivos foram realizadas três etapas distintas:

Etapa 1 – Preparação e obtenções de extratos de folhas, caules e raízes separadamente em aparelho Soxhlet.

Etapa 2 – Caracterização química elementar através da técnica nuclear de ativação com nêutrons, seguida da espectroscopia gama em diferentes extratos de crescente polaridade.

Etapa 3 – Prospecção fitoquímica, realizada através de testes específicos, visando identificar a presença de grupos de metabólitos secundários presentes nos diferentes extratos.

4 - Metabolismo secundário e utilização de metais pelas plantas

Produtos naturais são, como o nome o indica, os compostos químicos obtidos de fontes naturais, quer sejam de origem animal ou vegetal assim como de fungos (SANTOS, 2003). Os produtos naturais podem dividir-se em duas classes principais: os metabólitos primários e os metabólitos secundários, consoante sejam produtos resultantes do metabolismo primário ou do metabolismo secundário dos seres vivos (WINK, 1990). Os metabólitos primários são comuns a todos os seres vivos e estão envolvidos nos fenômenos de manutenção da vida. É o caso, por exemplo, dos ácidos nucleicos, das proteínas e dos hidratos de carbono. Os metabólitos secundários, ao contrário dos anteriores, não se encontram disseminados por todos os seres vivos, mas são compostos que são unicamente produzidos por algumas espécies em particular e cuja ocorrência é limitada (GOETTLIEB; KAPLAN; BORIN, 1996). Na maior parte dos casos não são essenciais à manutenção da vida do ser que os produz e muitas vezes a sua produção depende de fatores externos, ou é uma resposta a esses fatores externos. É corrente utilizar o termo de “produto natural” como sinônimo de metabólito secundário. Os metabólitos secundários, apesar de existirem em grande número e diversidade, são todos produzidos a partir de um pequeno número de compostos-chave resultantes do metabolismo primário. A produção de metabólitos secundários é, sem margem para dúvidas, a resposta química às contínuas alterações que se verificam nas interações entre as diversas espécies de seres vivos (WINK, 1990).

Devido à grande importância dos metabólitos secundários, principalmente no que diz respeito à atividade biológica, será apresentada uma breve introdução sobre as principais classes desses metabólitos secundários.

4.1 – Principais famílias de metabólitos secundários em plantas

4.1.1 – Derivados do ácido xiquímico

O ácido xiquímico é um precursor de uma enorme variedade de metabólitos secundários que possuem na sua estrutura um anel aromático. Este ácido deriva diretamente da glicose via fosfato de D-eritrose e fosfoenolpiruvato.

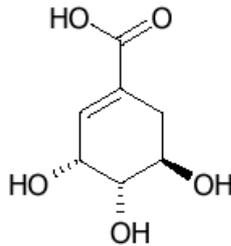


Figura 4.1 – Ácido xiquímico, precursor de vários metabólitos secundários em plantas.

O ácido xiquímico foi isolado pela primeira vez em 1885, de uma planta japonesa, shikimino-ki, daí o seu nome. Vários dos metabólitos secundários são provenientes desse ácido. O Ácido xiquímico é também o precursor biossintético do ácido gálico, portanto dos galotaninos. Os galotaninos são compostos que por hidrólise originam um açúcar e ácido gálico. O ácido gálico e os galotaninos formam moléculas orgânicas complexas denominadas taninos. Os taninos podem ser extraídos de várias fontes de origem vegetal como frutos e folhas de diversos arbustos e casca e madeira de árvores (HASLAM; CAI, 1994). Os taninos são utilizados na indústria dos curtumes para curtir a pele e obter o cabedal. Plantas ricas em taninos são utilizadas na medicina popular para o tratamento de diversas moléstias como diarreias, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, queimaduras, feridas em geral, problemas estomacais, renais e processos inflamatórios em geral (DE BRUYNE; et al., 1999). Testes *in vitro* realizados com extratos ricos em taninos têm identificado diversas ações biológicas nas quais pode se destacar ações bactericida e fungicida (SCALBERT, 1991).

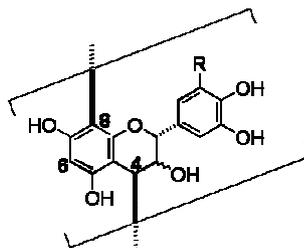


Figura 4.2 – Unidade constitutiva de taninos condensados.

4.1.2 – Ácidos graxos e derivados

São ácidos carboxílicos de cadeia carbônica comprida. A cadeia pode estar totalmente saturada ou pode conter insaturações. Em geral as duplas ligações presentes têm uma geometria cis. Quando estão presentes mais do que uma dupla ligação, em geral estas estão separadas por um grupo metileno.

Acetilenos e poliacetilenos são produzidos por desidrogenação dos ácidos graxos. Estes compostos estão presentes em plantas superiores principalmente da família das *Compositae* e *Umbelíferae* e em fungos superiores como os *Basidiomycetes*.

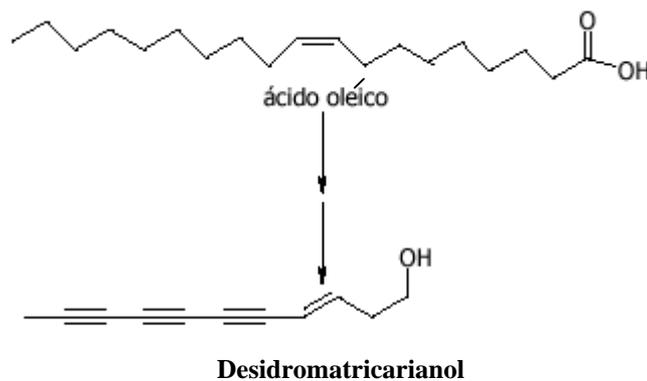


Figura 4.3 – Exemplo de obtenção de um poliacetileno.

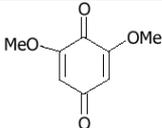
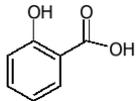
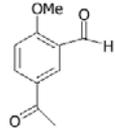
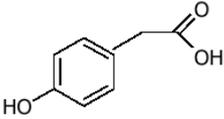
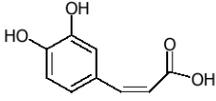
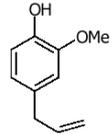
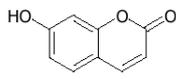
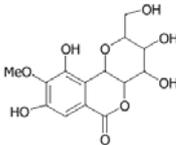
4.1.3- Ceras

As ceras são misturas de n-alcanos ou de alcanos ramificados de cadeia longa, da ordem dos 30 átomos de carbono. Em algumas plantas são misturas de alcanos, álcoois e cetonas. Têm uma função protetora e isoladora e encontram-se principalmente nas folhas. São resultantes, provavelmente, da descarboxilação de ácidos graxos de cadeia longa (MOYNA; HEINZEN, 2003). Devido a seu caráter lipofílico atuam como uma potente barreira à saída de água, propriedade importante em plantas de clima árido.

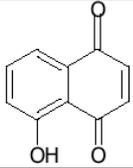
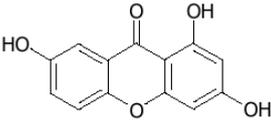
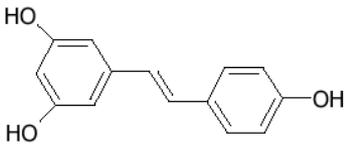
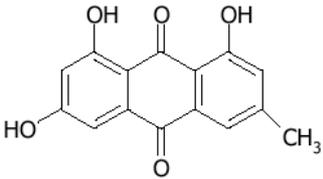
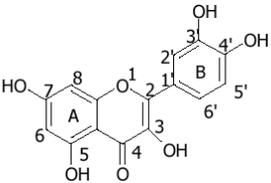
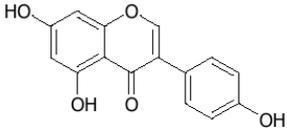
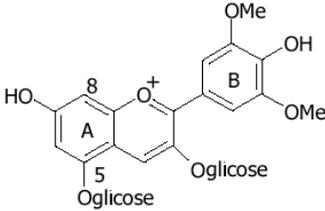
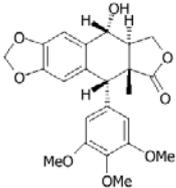
4.1.4- Compostos fenólicos e derivados

A expressão “compostos fenólicos” abrange um vasto conjunto de compostos em que se encontra presente um anel aromático substituído por um ou mais grupos hidroxila. Na maior parte destes compostos encontram-se presentes mais do que um anel. São os responsáveis pelas cores de plantas e frutos e também pelo sabor e cor de muitas bebidas e alimentos.

Tabela 4.1 – Principais compostos fenólicos e respectivas estruturas

Classe	Exemplo	Estrutura
Fenóis simples	Catecol	
Benzoquinonas	2,6-dimetoxi-benzoquinona	
Ácidos fenólicos	Ácido salicílico	
Acetofenonas	3-acetil-6-metoxibenzaldeído	
Ácidos fenilacéticos	Ácido <i>p</i> -hidroxi-fenilacético	
Ácidos hidroxicinâmicos	Ácido cafêico	
Fenilpropenos	Eugenol	
Cumarinas	Umbeliferona	
Isocumarinas	Bergenia	

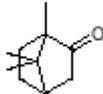
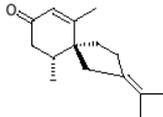
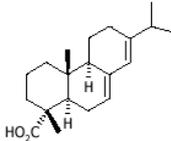
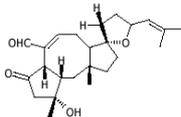
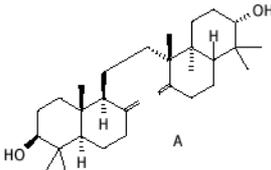
Continuação da Tabela 4.1 – Principais compostos fenólicos e respectivas estruturas

Naftoquinonas	Juglona	
Xantonas	Gentiseína	
Estilbenos	Ácido resveratrol	
Antraquinonas	Emodina	
Flavonóides	Quercetina	
Isoflavonóides	Genisteína	
Antocianinas	Malvina	
Linhanos	Podofilotoxina	

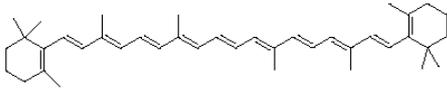
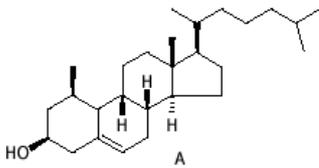
4.1.5 – Terpenóides

Os terpenóides, que também podem ser designados de terpenos ou isoprenóides, são formados pela união de unidades com cinco átomos de carbono. Compostos pertencendo à família dos terpenóides estão presentes em toda a parte: sementes, folhas, flores, raízes e troncos de plantas superiores, em bolores, fungos e líquens. São atribuídos aos terpenos atividades biológicas como ação anestésica, antiinflamatória, antiviral, hipoglicemiante, antiespasmódica e antialérgica (CALIXTO; et al., 1997). Os membros mais simples são os constituintes principais dos óleos essenciais e são os responsáveis pelo aroma das plantas como a cânfora, geraniol, α -pineno e β -pineno.

Tabela 4.2 - Classes de terpenóides

Classe	Nº de carbonos	Exemplo	Estrutura
Hemiterpenóide	5	Isopreno	
Monoterpenóides	10	Cânfora	
Sesquiterpenóides	15	β Vetivona	
Diterpenóides	20	Ácido Abético	
Sesterterpenóides	25	Ofiobolina	
Triterpenóides	30	Ambreína	

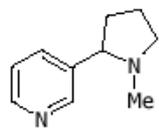
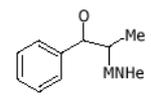
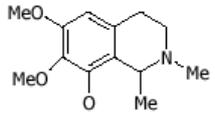
Continuação da Tabela 4.2– Classe de terpenóides

Carotenóides	40	β Caroteno	
Poli-isoprenóides	>45	-	-
Esteróides	18 a 29	Colesterol	

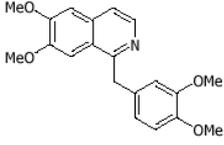
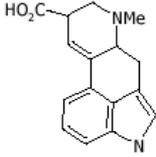
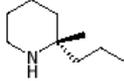
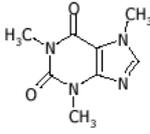
4.1.6 – Alcalóides

Os alcalóides são o grupo de metabólitos secundários onde existe maior diversidade estrutural. São conhecidos mais de 5000 compostos, a maior parte deles proveniente de plantas, embora também tenham sido encontrados alcalóides em fungos e em animais, incluindo os mamíferos. A maior parte destes compostos têm importante ação fisiológica: foram usados como venenos (coniina, batracotoxina), agentes psicodélicos e estimulantes (morfina e cocaína) ou como medicamentos (efedrina), entre outros exemplos (LEVIN, 1976).

Tabela 4.3 – Classes de Alcalóides

Classe	Exemplo	Estrutura
-	Nicotina	
Monocíclicos simples	Efedrina	
Isoquinolínicos	Pelotina	

Continuação da Tabela 4.3 – Classe de Alcalóides

Benzilisoquinólicos	Papaverina	
Amarilidáceos	Ácido lisérgico	
Pseudoalcalóides	Coniina	
Purínicos	Cafeína	

4.2 – A utilização dos metais pela planta

Os metais são considerados componente nutritivo e necessário às plantas. De um modo geral, estes são absorvidos na forma iônica. A força com que o íon é absorvido é fator dependente da sua concentração no solo, carga elétrica, bem como seu grau de hidratação (LARCHER, 2000). Geralmente íons de maior valência são mais absorvidos, como exemplo o íon Ca^{+2} é mais absorvido em relação ao K^{+} . Uma forma importante de absorção de íons metálicos é a formação de quelados metálicos com ácidos orgânicos (ácido málico e ácido cítrico), aminoácidos e compostos fenólicos. O processo de complexação facilita a adsorção dos metais pela raiz (MARSCHNER, 1985).

A eficiência da absorção de íons metálicos através da raiz e a preferência desta por diferentes íons é uma determinação genética, bem como a afinidade dos íons aos agentes quelantes disponíveis. Como exemplo, a figura abaixo mostra as formas de mobilização de metais, por meio da redução ou formação de substâncias queladas.

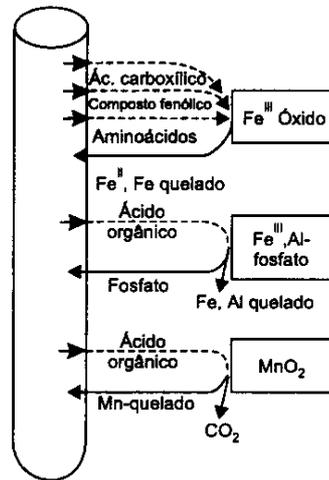


Figura 4.4 – Formas de mobilização de metais por meio da redução ou formação de substâncias queladas, segundo Marschner, 1985.

O transporte dos metais a outras partes da planta é promovido através do floema e xilema, que são canais de transporte da planta, na qual são amplamente e rapidamente distribuídos. Cada um dos metais incorporados torna-se um importante componente ou ativador de enzimas, ou ainda regulador das atividades enzimáticas através do efeito coloidal que exerce sobre o grau de hidratação do protoplasma.

Algumas reações de oxiredução ocorrem entre metais e metabólitos secundários, como exemplo, a redução de íons Fe^{+3} por um metabólito secundário mostrado na figura abaixo:

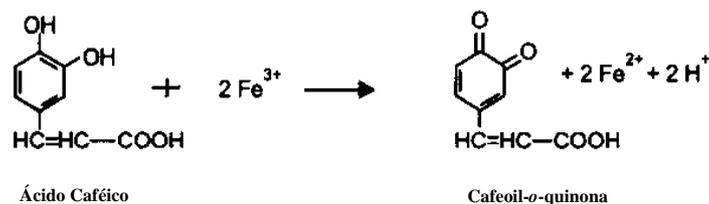


Figura 4.5 – Redução do íon Fe^{3+} por meio de um metabólito secundário, o ácido caféico, segundo Isermann, 1980.

Os principais metais considerados macronutrientes são Ca, Mg, K e os elementos não metálicos N, P são necessários em elevadas quantidades, suprindo assim as necessidades da planta. Os metais considerados micronutrientes são Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, e os elementos não metálicos como B e Cl, são necessários em pequenas quantidades, mas todos são essenciais e não podem ser substituídos por outros (EPSTEIN, 1994). Os principais metais devem estar disponíveis prontamente desde os primeiros estágios de desenvolvimento da planta. Um suprimento inadequado desses metais durante as fases iniciais da planta, poderá ocasionar um baixo crescimento e desenvolvimento. De acordo com LARCHER, 2004, após a incorporação dos metais, é possível a verificação de três estados nutricionais relacionados como rendimento da sua produção em termos de matéria seca: deficiência nutricional, estado nutricional adequado, excesso de substâncias minerais. Outro fator importante a ser considerado é a relação entre concentração de metais e rendimento da produção de matéria seca. A figura abaixo demonstra esta relação.

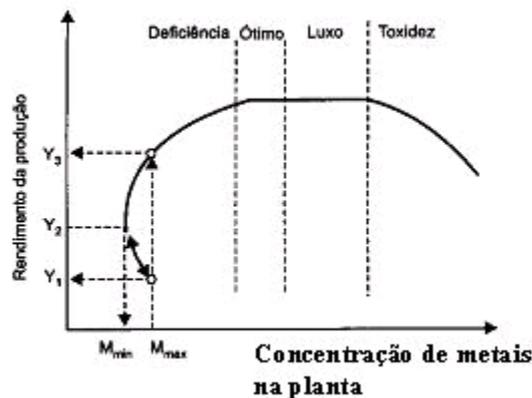


Figura 4.6 – Relação entre concentração de metais e produção de matéria seca.

Para o metabolismo o importante é a concentração dos elementos e não a quantidade, de modo que as concentrações dos metais nos tecidos da planta influenciam todo o metabolismo, determinando ainda, o aumento ou diminuição dos produtos do metabolismo secundário. As condições químicas em torno do rizoma promovem ajustes do metabolismo da planta, assim como a oferta de metais para os vegetais. A composição química e a disponibilidade de íons dependem diretamente do contexto geológico ao qual a planta se desenvolve. Assim, em solos que apresentam certas particularidades em sua composição de metais, é comum encontrar espécies com metabolismo particulares, que poderiam suportar por exemplo, altas concentrações de certos metais (EPSTEIN, 1994).

Graças aos vegetais, um importante mecanismo de ciclagem dos minerais pode ser realizado. Minerais são retirados de partes mais profundas do solo pelas raízes, para camadas mais externas, após morte ou queda de suas folhas e galhos. Certas espécies são capazes de absorver elementos que foram carregados por lixiviação para camadas muito profundas, disponibilizando estes para outras plantas, assim senão fosse dessa maneira, não conseguiriam absorver tais metais. Este equilíbrio é de extrema importância, pois são as bases para a fertilização e manejo correto do solo. A concentração hidrogeniônica do solo é considerada um dos fatores mais importantes e determinantes na distribuição dos metais no solo, uma vez que irá influenciar as formas iônicas e solubilidade dos íons, interferindo indiretamente na absorção destes pela planta. A figura a seguir, demonstra as variações da mobilização e disponibilidade de metais e outros nutrientes em função do pH no solo.

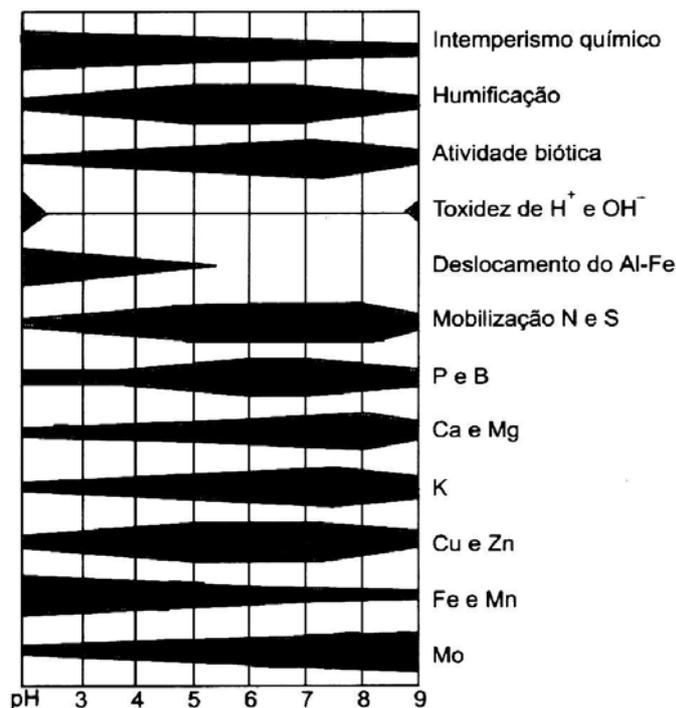


Figura 4.7– Valores de pH do solo sobre a mobilização e disponibilidade de metais e outros nutrientes no solo (MARSCHNER, 1985).

De acordo com Epstein, 1972, o elemento é essencial, quando:

- * Realiza um importante papel no processo fisiológico da planta.
- * Ativa enzimas ou as regula, funcionando como um co-fator.
- * Quando é um constituinte integral de um metabólito, complexo ou macromolécula.

Muitos metais são importantes como constituintes de enzimas e carreadores de elétrons. Um metal pode ser constituinte de um grupo protéico ou co-enzimas. Enzimas que possuem metais complexados são conhecidas como metaloenzimas. Inúmeros processos enzimáticos são governados por metais. Como exemplo:

- **Magnésio.** Mais da metade do magnésio encontrado em plantas se localiza nos cloroplastos (STOCKING AND ONGUN, 1962). Atua, ainda, como ativador de diversas enzimas e é considerado o cátion divalente importante em enzimas que sintetizam o DNA e o RNA. Está presente em processos que envolvem enzimas fixadoras de CO₂. Está diretamente ligado a reações que envolvem a conversão de ADP e ATP celulares. As clorofilas são conhecidas como magnésio-porfirinas e são as moléculas de maior estabilidade dentre os compostos encontrados normalmente em plantas.
- **Potássio:** É o cátion monovalente mais abundante nas plantas, atua como ativador de diversas enzimas que são essenciais à fotossíntese e à respiração celular. Possui grande mobilidade, contribuindo efetivamente no controle osmótico das células e ativação de enzimas.
- **Cálcio:** É o cátion divalente mais abundante nas plantas, atua como um importante componente das paredes celulares, sendo considerado importante na manutenção da integridade de membranas, especialmente as plasmáticas. Possui a capacidade de promover a estabilização de polissacarídeos formando complexos com grupos carboxila das pectinas. A concentração de cálcio livre no citosol é normalmente baixa, da ordem de 10⁻⁷ Mol/L.

- Ferro: Em ambas as formas catiônicas, participa de importantes processos de oxidação em diversas enzimas. É necessário à síntese de clorofila e nas plantas geralmente é encontrado na forma de quelados, uma vez que seu transporte é difícil na forma de íon.
- Zinco: Atua em processos de ativação enzimática, participa do metabolismo basal, degradando proteínas.
- Cobre: Possui funções relacionadas ao metabolismo secundário, metabolismo do nitrogênio e anabolismo de compostos do metabolismo primário.
- Sódio: Sua exata função ainda não se encontra totalmente elucidada. Participa de funções importantes no controle do equilíbrio elétrico das soluções intracelulares.
- Cobalto: Até o presente, estudos realizados são insuficientes para elucidação das suas funções, porém bactérias fixadoras de nitrogênio necessitam de tal metal.

O conteúdo médio dos metais no solo, necessidade média e fitomassa de plantas terrestres, são apresentados na tabela a seguir, segundo EPSTEIN, 1972.

Tabela 4.4: Concentração de metais em plantas e solo ($\mu\text{g/g}$)

Metal	Teor médio no solo ($\mu\text{g/g}$)	Limites de valores na planta ($\mu\text{g/g}$)	Necessidades ($\mu\text{g/g}$)
Al	70.000	40 a 500	-
Fe	40.000	2 a 700	aprox 100
Ca	15.000	400 a 1500	3000 a 15000
K	14.000	1000 a 70000	5000 a 20000
Mg	5.000	700 a 9000	1000 a 30000
Na	5.000	20 a 1500	-
Mn	1.000	3 a 1000	30 a 50
Sr	250	3 a 400	-
Rb	150	até 50	-
Zn	90	1 a 400	10 a 50
Ni	50	até 5	-
Cu	30	4 a 20	5 a 10
Pb	30	até 20	-
Co	8	até 5	-
Mo	3	até 1	até 0,2

5 - Análise por ativação neutrônica (AAN)

5.1 – Considerações Gerais

A análise por ativação neutrônica foi descoberta em 1936 por Levi e George Hevesy, premiado com o Nobel de Química no ano de 1943, pelo uso da radioatividade na produção de radioisótopos artificiais. Eles observaram que a atividade induzida decrescia em diversas matrizes com diferentes constantes de decaimento. Desta observação, reconheceu-se o potencial do uso da radioatividade induzida para a investigação dos elementos químicos. O desenvolvimento dos reatores nucleares na década de quarenta e dos cintiladores de iodeto de sódio na década de cinquenta impulsionaram a descoberta de Levi e George Hevesy consagrando-a como uma valiosa ferramenta para análise da composição química elementar.

No decorrer dos anos, a análise por ativação neutrônica vem apresentando notáveis progressos devido às performances operacionais, oriundas do desenvolvimento de detectores de Germânio intrínseco, instrumentos eletrônicos apropriados, avanços computacionais e manuseio automático de amostras. Nos últimos anos, o desenvolvimento de maior destaque, indubitavelmente, ocorreu nos métodos experimentais, com o desenvolvimento do método paramétrico (K_0) (DE CORTE; et al., 1987).

A análise por ativação neutrônica tem sido reconhecida como uma das mais importantes ferramentas analíticas na determinação da composição química elementar em teores de traços. Esta técnica vem sendo largamente utilizada em todo o mundo, cada vez com maior frequência, tendo a grande maioria dos trabalhos caráter multidisciplinar. A grande aplicabilidade alcançada, deve-se às vantagens que apresenta, dentre as quais se destacam: seletividade, sensibilidade, capacidade de análise multielementar, baixa ocorrência de interferências, entre outras.

A técnica tem como princípio a indução de radioatividade artificial em uma amostra através da irradiação com nêutrons e posterior medida da atividade induzida mediante a detecção da radiação gama. Os fenômenos físicos na qual está fundamentada são as propriedades do núcleo, radioatividade e a interação da radiação com a matéria por via de uma reação nuclear típica nêutron-gama (n,γ).

A Figura 5.1 ilustra o processo de ativação por nêutrons. Um nêutron incidente choca-se com um núcleo atômico (núcleo alvo) por meio de uma colisão inelástica, formando assim um núcleo composto que se encontra em um estado de excitado. O tempo de vida do núcleo composto é muito pequeno, variando entre 10^{-6} e 10^{-14} segundos (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 1990). O núcleo composto emitindo uma energia de decaimento denominada radiação gama Prompt, decai para uma configuração mais estável dando origem a um núcleo radioativo. Posteriormente o núcleo radioativo, com diferentes possibilidades, decai a um núcleo estável liberando, contudo, radiação gama denominada “raio gama de decaimento”. Os raios gama de decaimento possuem energias que são características de cada radionuclídeo. Assim, quando detectados por espectroscopia gama podem ser utilizados para identificar e quantificar os elementos químicos presentes em uma amostra.

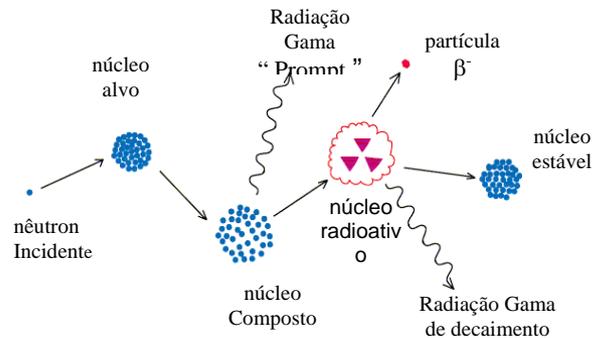


Figura 5.1 – Esquema do processo de ativação por nêutrons (Elemental Analysis, 2003).

A probabilidade de captura do nêutron incidente pelo núcleo alvo é dada por uma grandeza física denominada seção de choque (σ). A seção de choque relaciona a probabilidade do nêutron incidente atingir um núcleo atômico e assim iniciar a reação nuclear (n,γ). A dimensão da seção de choque é dada pelo Barn (equivalente a 10^{-24}cm^2) sendo uma função direta da energia cinética do projétil incidente. A seção de choque pode ser comparada a constante cinética de uma reação química onde se tem:



$$\frac{d[B]}{dt} = k.[A]$$

Analogamente, a seção de choque de uma reação nuclear onde se tem:



$$\frac{d[B]}{dt} = \sigma \cdot \phi_x \cdot N_A$$

Onde:

$$\frac{d[B]}{dt} = \text{Taxa de formação de núcleos do átomo B em relação ao tempo}$$

σ = Seção de choque

ϕ_x = Fluxo do projétil

A ativação neutrônica é realizada em reatores de pesquisas que geralmente são adquiridos por órgãos governamentais ou universidades com o objetivo de dar suporte às pesquisas interdisciplinares. O Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, possui um reator TRIGA IPR-R1, dotado de mesa giratória e dispositivo de irradiação especialmente apropriado para esta técnica analítica. Durante a irradiação a mesa gira em torno do núcleo do reator a uma velocidade constante, de modo a garantir um fluxo de nêutrons uniforme nas amostras e materiais de referência.

Em um reator nuclear, os nêutrons geralmente são originados da fissão do ^{235}U . Estes apresentam uma energia cinética em um intervalo de 15 MeV cuja energia média é cerca de 2 MeV. Através de uma colisão elástica com núcleos moderadores, os nêutrons de fissão rapidamente tornam-se termalizados originando nêutrons cuja energia cinética estão distribuídos em um certo intervalo. Com base no intervalo de energia cinética, os nêutrons são classificados em três componentes principais: térmico, epitérmico e rápido. Os nêutrons térmicos, correspondem aos nêutrons de mais baixa energia cinética ($< 0,5$ eV), estes apresentam maior probabilidade de permanência no ambiente do núcleo alvo. Assim, o fluxo de nêutrons térmicos (ϕ_{th}) possui energia cinética mais apropriada para que ocorra a reação de captura do nêutron pelo núcleo alvo, ou seja, maior probabilidade para que ocorra a reação (n, γ). (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 1990).

A variação da energia em função do fluxo de nêutrons, pode ser visto na figura 5.2

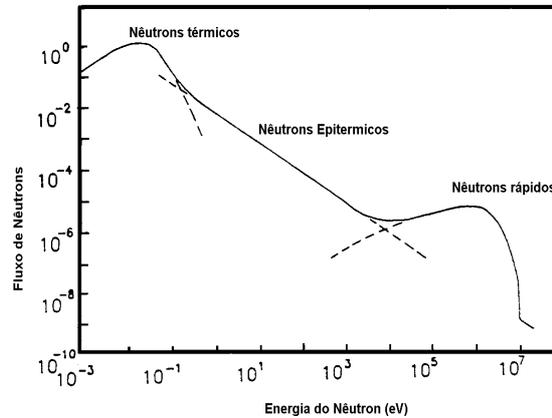
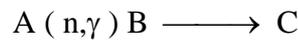


Figura 5.2 – Variação da energia em função do fluxo de nêutrons.

Um reator nuclear de pesquisa produz um elevado número de nêutrons sob um fluxo constante. No Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, o Reator TRIGA IPR-R1, trabalha numa potência atual de 100 kW, sob um fluxo de nêutrons térmicos uniforme de $6,6 \times 10^{11} \text{ ncm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Quando uma amostra é irradiada, a reação de captura de nêutrons ocorrerá conforme:



A taxa de formação do átomo B será dada por:

$$\frac{d[B]}{dt} = n\phi\sigma$$

Onde n é o número de átomos alvo. Porém os átomos B sofreram decaimento numa taxa de $\lambda_B N_B$. Então temos que:

$$\frac{dn}{dt} = n\phi\sigma - \lambda_B N_B$$

Integrando a equação e simplificando teremos que a atividade do átomo B será dado por:

$$A_B = n\phi\sigma(1 - e^{-\lambda_B t})$$

5.2 – Metodologia da Técnica

Para a determinação da composição química elementar através da AAN, a etapa inicial é a ativação neutrônica, que consiste na irradiação das amostras no Reator. Após a irradiação, as amostras são submetidas à espectrometria gama, através da qual são identificados picos característicos dos elementos químicos. A concentração dos elementos de interesse é calculada através da comparação da medida da atividade induzida da amostra e de um padrão cujas concentrações são conhecidas.

Pelo método de padronização relativa, a radioatividade de cada radionuclídeo detectado na amostra é comparada com a respectiva radioatividade do radionuclídeo dos padrões. Para cada radionuclídeo a ser analisado um padrão deverá ser utilizado. Alguns laboratórios utilizam materiais de referência certificados como padrões. Nestes casos o método é denominado comparativo e não padronizado. Para o método de padronização relativa podemos descrever a seguinte equação (EHMANN, 1991):

$$\frac{R_{std}}{R_{sam}} = \frac{w_{std} (e^{-\lambda t})_{std}}{w_{sam} (e^{-\lambda t})_{sam}}$$

Onde:

w = Massa do elemento

t = Tempo de decaimento

std = padrão

sam = amostra

No método paramétrico (K_0), todos os elementos detectados são analisados utilizando-se um mesmo elemento comparador. Um fator de comparação K é considerado para análise das amostras. Este método é conhecido como padronização K_0 (K_0 Standardization). Neste método a concentração dos elementos de interesse é calculada, usando padrões ou materiais certificados e parâmetros experimentais como fluxo de nêutrons e a eficiência do detetor de energia gama. Na prática, entretanto, a incerteza dos parâmetros nucleares é um dos maiores desafios do método K_0 .

Embora o método de padrão já seja bem consagrado, uma análise multi-elementar pelo método de padrão requer um grande número de padrões para cada elemento. A preparação e irradiação de vários padrões para cada elemento é cara e consome muito tempo, o uso de materiais de referência como padrões não é prático devido a inexatidão na concentração de certos elementos. Como resultado, os métodos K_0 vem sendo cada vez mais utilizados, permitindo um aumento na capacitação analítica dos laboratórios, análises mais rápidas e econômicas, além de um aumento no número de elementos a serem determinados em uma amostra. A demanda crescente em todo o mundo de análises multi-elementares, vem permitindo ao método K_0 uma certa popularidade. Utilizando o método paramétrico teremos (DE CORTE; et al., 1987):

$$[ppm] = \frac{\frac{n_p / t_m}{(n_p / t_m)^*} \cdot \frac{1}{K_0} \cdot \frac{f + Q_0^*(\alpha)}{f + Q_0(\alpha)} \cdot \frac{E_p^*}{E_p}}{(S.D.C.w)^*}$$

na qual K_0 é definido como:

$$K_0 = \frac{M^* \cdot \Theta \cdot \sigma_0 \cdot \gamma}{M \cdot \Theta^* \cdot \sigma_0^* \cdot \gamma^*}$$

Onde:

M = massa atômica

Θ = Abundância Isotópica

σ_0 = 2200 m. s^{-1} (n, γ) seção de choque

γ = intensidade Gama absoluta no fotopico

n = Área do pico

W^p = Massa da amostra em gramas

M^* = Massa do elemento comparador

S = $1 - e^{-\lambda \cdot t(\text{irradiação})}$

D = $1 - e^{-\lambda \cdot t(\text{decaimento})}$

C = $[1 - e^{-\lambda \cdot t(\text{medida})}] / \lambda t_m(\text{medida})$

f = razão entre fluxo de nêutrons térmicos / epitérmicos

$Q_0(\alpha)$ = razão entre $I_0(\alpha)$ (integral de ressonância)

E_p = Eficiência do detector Ge(Li)

5.3 – Características, cuidados e aplicações da técnica

A análise por ativação neutrônica pode ser instrumental (INAA) ou envolvendo separações radioquímicas (RNAA). A INAA consiste na medida direta do espectro gama da amostra sem separação química, sendo na maioria das análises a mais utilizada. Muitas vezes, devido as interferências separação química ou radioquímica antes ou após a irradiação se faz necessária. Os fatores que interferem normalmente são

- Determinação de elementos em teores de traços em matrizes complexas.
- Superposição de picos gama.
- Presença de moderadores ou absorvedores de nêutrons, como o cádmio, boro e gadolínio.
- Redução do nível de radiação durante espectrometria gama.

A INAA apresenta baixa ocorrência de interferências. Devido a possibilidade de diversas combinações de tempo de irradiação, decaimento e contagem, bem como seleção de diferentes energias gama para contagem. Além disso, permite separações radioquímica e/ou química antes e após a irradiação. A técnica geralmente é menos sujeita a interferências que as convencionais.

A maior parte dos elementos químicos naturais são analisáveis por ativação neutrônica, ou seja, tem propriedades nucleares adequadas para a ativação neutrônica. A AAN tem a capacidade de análise multielementar, uma vez que a irradiação da amostra e a espectroscopia gama são processos inerentemente multissotópicos. Sendo assim, é possível determinar grande número de elementos simultaneamente (cerca de 30 elementos químicos). A reação nuclear (n,γ) independe do estado físico da matriz. Assim, pode ser aplicada em matrizes de qualquer natureza, estejam nos estados sólido, líquido e gasoso, suspensões, pastas. (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARD AND TECHNOLOGY, 2003). Entretanto, amostras sólidas geralmente necessitam de procedimentos prévios como lavagem, secagem em fornos ou aparelhos liofilizadores, homogeneização, fracionamento e pelotização. Amostras líquidas podem exigir secagem e concentração em evaporador rotativo. Para algumas amostras torna-se necessário cuidados com o aquecimento, uma vez que certos elementos, tais como, As, Hg, Sb e diversos halogênídricos possuem grande capacidade de volatilização. Durante o procedimento de amostragem, estas devem estar isentas de contaminantes como poeiras e resíduos em geral. A homogeneização da amostra é uma etapa

importante, evitando assim, erros estatísticos decorrentes de uma amostragem inadequada. Neste contexto, sistema de quarteamento é bem aplicável. Amostras que apresentam grande conteúdo aquoso, este, deve ser eliminado por meio de liofilização. Após a irradiação, a amostra não é visualmente e quimicamente alterada. Entretanto irradiações longas de alguns materiais podem alterar a natureza química e a aparência da amostra. A reutilização da amostra deve ocorrer apenas após o decaimento conveniente dos radionuclídeo presentes. (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 1990). A presença de impurezas após a irradiação no decorrer das manipulações por reagentes não afetam os resultados, pois, uma vez irradiada a amostra os seus componentes estão nuclearmente marcados, não havendo possibilidade de contaminação posterior.

A técnica apresenta excelente seletividade e sensibilidade sendo este um dos motivos de sua grande aplicabilidade. A seletividade é devida principalmente às propriedades nucleares diferentes para elementos com propriedades químicas semelhantes. Existem elementos difíceis de serem analisados por técnicas analíticas convencionais mas que são relativamente fáceis por ativação neutrônica. Entre eles destacam-se as terras raras, os metais preciosos e alguns tóxicos, como o antimônio e arsênio. A AAN apresenta excelente sensibilidade para um grande número de elementos. A sensibilidade depende de muitos parâmetros experimentais que podem ser ajustados, bem como de parâmetros nucleares e do fluxo de nêutrons no reator. Devido a grande sensibilidade, pequenas quantidades de amostra são necessárias; em alguns casos, poucas miligramas são suficientes. Isto é uma grande vantagem em análises de pequenas quantidades de amostras ou de amostras raras e preciosas.

No procedimento de contagem, as interferências como “auto blindagem” poderão ocorrer se a amostra possuir um auto grau de compactação. Assim, a radiação gama proveniente de radionuclídeos localizados na região central da amostra, pode ser atenuada, dificultando sua detecção. Outro fator importante é o tempo em que o detetor não consegue interagir com a radiação proveniente da amostra. Este tempo é definido como tempo morto do detetor.

Os processos físicos envolvidos na análise por ativação neutrônica são bem compreendidos e as reações nucleares possíveis podem ser obtidas a partir da inspeção da tabela de radionuclídeos. A análise por ativação neutrônica, quando adequadamente executada, é um dos métodos analíticos mais precisos e exatos. Isto a torna uma importante ferramenta analítica para certificação, calibração e intercomparação de amostras em teores traços e ultra-traços (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 2001). Sua aplicabilidade abrange várias áreas, tais como, pesquisas e monitoramento ambiental, ciência

de materiais, medicina, biologia, geoquímica e exploração mineral, arqueologia, entre outras. Existem três importantes grupos de usuários: universidades, órgãos governamentais e empresas privadas. Cada um desses usuários utiliza a análise por ativação neutrônica com objetivos diferentes. Para que a aplicação da análise por ativação neutrônica seja bem sucedida e melhor servir os usuários, é muito importante compreender a matriz em estudos, as possíveis interferências, os elementos de interesse. A tabela abaixo exemplifica importantes aplicações da AAN em diversas áreas do conhecimento.

Tabela 5.1 – Aplicações da análise por ativação neutrônica em diversas áreas.

Área do Conhecimento	Principais Aplicações
Arqueologia	Ossos, cerâmica, joalheiras, artefatos metálicos, pinturas e solos.
Biomedicina	Análise em tecidos humanos diversos, células cerebrais, estudos de câncer.
Química Forense	Detecção de explosivos, análise de pólvora de um possível atirador, análise de cabelo.
Geologia e Geoquímica	Análise de petróleo, amostra de solos, rochas e sedimentos, amostra lunares.
Produtos industrializados	Aços, materiais refratários, fertilizantes, produtos farmacêuticos e plásticos.
Nutrição	Alimentos em geral, sementes de vegetais.

Todas as técnicas analíticas, apresentam certamente muitos problemas analíticos necessitando de solução. As limitações que podem restringir a utilização da AAN são a necessidade de um reator nuclear ou de uma fonte de nêutrons com fluxo constante, bem como, os protocolos e regulamentos legais necessários à garantia da segurança e radioproteção. Os resultados muitas vezes, não são imediatos, pois certos radionuclídeos necessitam de prazos maiores que um mês para o decaimento de radionuclídeos que podem interferir e/ou estar com atividade elevada (DE CORTE; 1987). A técnica de ativação com nêutrons não propicia investigações quanto à forma química, coordenação ou estado de oxidação dos elementos em estudo.

6 – Parte experimental

6.1 – Materiais, métodos e instrumentos

1 – Extratos dos diferentes materiais botânicos foram obtidos por processos de extração contínua usando aparelho Soxhlet.

2 – Os extratos foram concentrados em evaporador rotatório usando-se pressão reduzida nas condições em que isto foi necessário.

3 – Nos processos de cromatografia em camada delgada (CCD), usou-se sílica gel 60 G Merck, na espessura de 0,25 mm (analítica), sobre placas de vidro de 3x10 cm ou de 10x10 cm.

4 – Como reveladores foram utilizados vapor de iodo; luz ultravioleta ($\lambda = 254$ ou 365 nm); solução (1:1) de vanilina a 1% em etanol com solução de ácido perclórico a 5% em água destilada. Depois de borrifadas, as placas cromatográficas foram submetidas a aquecimento a 105°C .

5 – Pontos de fusão obtidos em graus Celsius foram determinados em aparelho Metler FP82 equipado com processador Metler FP800, pertencente ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas (ICEEx) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

6 – Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em Espectrômetro Shimadzu IR-408 do Departamento de Química, ICEEx, UFMG; em pastilhas de KBr (a 1 mg %) ou filme, quando necessário.

7 – Irradiações foram realizadas no Reator Nuclear de pesquisa TRIGA MARK-I IPR-R1 (CDTN/CNEN), sob um fluxo uniforme de nêutrons térmicos de $6,6 \times 10^{11}$ n.cm⁻².s⁻¹ a uma potência de 100 KW, na mesa giratória com tempo médio de irradiação de 10 horas.

8 – Espectrometrias gama foram realizadas em um detetor HPGe com eficiência relativa de 50% e FWHM de 1,82 para fotopico do ⁶⁰Co à 1332 keV.

6.2 – Metodologia da prospecção fitoquímica em *Talinum patens*

6.2.1 – Flavonóides

Para identificação de flavonóides presentes, 1g de amostra foi extraído por aquecimento em banho-maria durante 15 minutos com 5 mL de MeOH. O filtrado obtido foi então analisado por CCD. Aplicou-se o filtrado em placas de sílica gel, procedendo-se à eluição com AcOEt/ ácido fórmico/ HOAc/ H₂O (100:11:11:26), misturando-se primeiro AcOEt/ ácido fórmico/ HOAc em seguida a água, devagar e com agitação vigorosa.

À revelação sob luz UV₂₅₄ nm, os flavonóides aparecem como manchas azuis escuras em fundo amarelo e sob luz UV₃₆₅ nm, dependendo do tipo de estrutura do flavonóide, apresentam fluorescências amarelas, azuis ou verdes. Em solução etanólica à 5% de AlCl₃ os flavonóides aparecem como manchas de fluorescência amarela e/ou esverdeada.

6.2.2 – Alcalóides

Na identificação de alcalóides presentes, 1 g de amostra foi misturada com 1 mL de solução de NH₄OH 10% que então extraída sob agitação por 15 min a 60 °C, com 5 mL de MeOH. O filtrado obtido foi então usado para CCD, aplicado em placas de sílica gel, eluídas com tolueno /ACOEt/ dietilamina (70: 20:10).

Muitos alcalóides mostram fluorescência sob luz UV₂₅₄ nm e sob luz UV₃₆₅ nm, alguns apresentando fluorescência azul e/ou amarela. Em solução de reagente Dragendorff apresentam manchas alaranjadas-marrom. O controle positivo utilizado foi a maiteína.

6.2.3 – Cumarinas

Para detectar a presença de cumarinas, 1g de amostra foi extraído sob aquecimento e refluxo por 15 min com 10 mL de CH₂Cl₂. O filtrado foi então evaporado até *secura* e o resíduo dissolvido em 1 mL de tolueno. A solução obtida foi aplicada em placas de sílica gel, eluídas com:

1º) tolueno : éter (1:1) saturado com HOAc 10% aq. Obs.: a mistura (50mL + 50mL) dos solventes foi colocada com 50 mL HOAc 10% em um funil de separação.

2º) Ácido acético, revelando-se sob luz UV₂₅₄ nm todas as cumarinas mostram fluorescência distinta. Sob luz UV₃₆₅ nm todas cumarinas simples mostram fluorescência intensa azul/verde. Borrifando-se KOH 5% em etanol, observou-se intensa fluorescência azul/marrom, sob luz UV₃₆₅ nm.

6.2.4 – Saponinas

Para detectar presença de saponinas, 1g de amostra de *Talinum patens* foi extraído por aquecimento em banho-maria por 15 min com 5 mL de MeOH. O filtrado foi concentrado até 1 mL, misturado com 0,5 mL de H₂O e então extraído com 3 mL de butanol. A fase butanólica obtida foi então aplicada em placas de sílica gel 60 utilizando como eluentes, CHCl₃/ MeOH / H₂O (64:50:10). Revelando-se com solução de vanilina em etanol 10%, a presença de saponina é confirmada pelo aparecimento de manchas azuis, violetas e algumas vezes amarelas no visível.

6.2.5 – Polifenóis e taninos

1g de amostra de *Talinum patens* foi extraída por aquecimento em banho-maria por 15 min com 5 mL de MeOH. O filtrado obtido foi aplicado em placa de sílica gel 60 a qual foi eluída com hexano/AcOEt (1:1); tolueno/ butanol/HOAc/H₂O (50:25:25:5). A revelação foi efetuada com solução de cloreto férrico em etanol a 2%. Polifenóis: apresentam manchas de colorações diversas (castanho-avermelhadas, violetas, verdes, azuis). Taninos: as manchas apresentam coloração negra azulada ou esverdeada.

6.2.6 – Triterpenos/esteróides

Para evidenciar a presença de esteróides e triterpenos, 2 g de amostra foram extraído com 20 mL de CHCl₃/ HOAc (99:1) em banho-maria por 15 minutos. O filtrado obtido foi aplicado em placa de sílica gel 60, usando como eluentes hexano/ AcOEt (1:1). Revelador: teste de Liebermann-Burchard.

6.3 – Metodologia de irradiação das amostras

O procedimento comumente utilizado para irradiação consiste em acondicionar as amostras a serem analisadas em tubos de polietileno. Após serem lacrados com tampas do mesmo material, são inseridos em tubos apropriados à inserção na mesa giratória do reator nuclear. As irradiações duraram 10 horas e foram acompanhadas por padrões de sódio em concentração de 1000 µg/g e materiais de referência certificados. Após as irradiações um tempo de espera conveniente é respeitado para que os radionuclídeos de meia vida curta não interfiram nos procedimentos de espectroscopia gama. Esse tempo é denominado tempo de decaimento.

Neste trabalho, através de espectroscopia gama, os picos característicos dos radionuclídeos ^{24}Na , ^{42}K , ^{46}Sc , ^{52}Cr , ^{59}Fe , ^{60}Co , ^{65}Zn , ^{72}Ga , ^{76}As , ^{86}Rb , ^{124}Sb , ^{134}Cs , ^{140}La , ^{141}Ce , ^{181}Hf , ^{187}W , ^{198}Au , ^{152}Eu foram determinados após tempo de decaimento de uma semana para os radionuclídeos de meia vida média e de um mês para os radionuclídeos de meia vida longa.

Através do software Genie-2000, as áreas sob os picos foram calculadas e a quantificação dos elementos seguiu a metodologia paramétrica K_0 , justificando assim a utilização de padrões de sódio.

Todos os procedimentos de irradiação e quantificação adotados neste trabalho seguiram normas usuais de análise por ativação neutrônica instrumental com nêutrons térmicos e são características do laboratório de Radioquímica do CDTN.

6.4 – Preparo do material botânico e amostras

Amostras de *Talinum patens* foram coletadas em janeiro de 2002 em quintais e jardins de residências e fazendas situados no município de Patos de Minas, Minas Gerais.

Raízes, caules e folhas foram separados e submetidos a um processo de inspeção visual e catação, buscando separar partes estragadas por ação de insetos e contaminações inorgânicas como pedregulhos. Em seguida, cada parte da planta foi lavada separadamente com esguichos leves e submersão em água destilada durante cerca de 5 segundos, para a retirada de eventuais contaminantes. Após a etapa de lavagem, folhas, caules e raízes foram espalhados sobre uma bancada de aço inoxidável, previamente lavada com água destilada e deixada no laboratório, ao ar livre, para término de secagem. Após secagem, cada material vegetal foi submetido à fragmentação em moinho de facas e em gral de coríndon, cuja granulometria atingiu variações entre 5 e 15 mm.

A metodologia de preparo foi baseada nos procedimentos adotados pelo NIST na preparação de materiais certificados padrão, buscando com isto minimizar eventuais procedimentos que trouxessem contaminações ou contribuíssem para as extrações indesejáveis de substâncias dos materiais botânicos.

Todos os solventes orgânicos utilizados no processo de extração em aparelho Soxhlet foram previamente destilados em evaporador rotativo, em temperaturas de operação rigorosamente controladas. Foram retiradas as cabeças de destilação e um resíduo de aproximadamente 80 mililitros no final do procedimento. Amostras de solventes tratados também foram enviadas para análise por ativação neutrônica instrumental.

Amostras dos tubos que portavam as amostras também foram enviadas para análise por ativação neutrônica, buscando assim obter um branco analítico.

Folhas de *Talinum patens* foram submetidas à extração em aparelho Soxhlet sequencialmente utilizando hexano, acetato de etila, etanol e água destilada como solvente extrator. O mesmo procedimento foi aplicado aos caules e raízes, cuja seqüência de procedimentos adotados na elaboração dos extratos está esquematizada nos itens 6.6 a 6.8 para cada parte do vegetal.

Durante o processo de extração etanólica dos caules de *Talinum patens*, um precipitado branco foi observado no fundo do balão. Após resfriamento e isolamento por filtração obteve-se 4g deste sólido que foi denominado de S1. O ponto de fusão deste sólido não foi determinado em virtude da incapacidade do aparelho em determinar valores acima de 450°C. Obteve-se também seu espectro na região do infravermelho (figura 7.5).

Amostras de extrato aquoso foram acondicionadas em béqueres de teflon previamente lavado com água destilada. Após, foram congeladas em um freezer e liofilizadas durante 36 horas para completa remoção de água.

6.5 – Simbologia adotada para identificação das amostras

O seguinte sistema de siglas para identificação dos extratos foi adotado: “F” para folhas, “C” para caules, “R” para raízes, “T” para *Talinum*, “P” para *patens*, “EH” para extrato em hexano, “AE” para extrato em acetato de etila, “EE” para extrato em etanol, “EA” para extrato aquoso. Assim, tem-se:

FTPIN	Folhas de <i>Talinum patens</i> “in natura”
FTPEH	Extrato em hexano das folhas de <i>Talinum patens</i> ,
FTPEAE	Extrato em acetato de etila das folhas de <i>Talinum patens</i> ,
FTPEE	Extrato em etanol das folhas de <i>Talinum patens</i> ,
FTPEA	Extrato aquoso das folhas de <i>Talinum patens</i> ,
CTPIN	Caules de <i>Talinum patens</i> “in natura”
CTPEH	Extrato em hexano dos caules de <i>Talinum patens</i> ,
CTPEAE	Extrato em acetato de etila dos caules de <i>Talinum patens</i> ,
CTPEE	Extrato em etanol dos caules de <i>Talinum patens</i> ,
CTPEA	Extrato aquoso dos caules de <i>Talinum patens</i> ,
RTPIN	Raízes de <i>Talinum patens</i> “in natura”
RTPEH	Extrato em hexano das raízes de <i>Talinum patens</i> ,
RTPEAE	Extrato em acetato de etila das raízes de <i>Talinum patens</i> ,
RTPEE	Extrato em etanol das raízes de <i>Talinum patens</i> ,
RTPEA	Extrato aquoso das raízes de <i>Talinum patens</i> ,

6.6 – Extração em folhas de *Talinum patens*

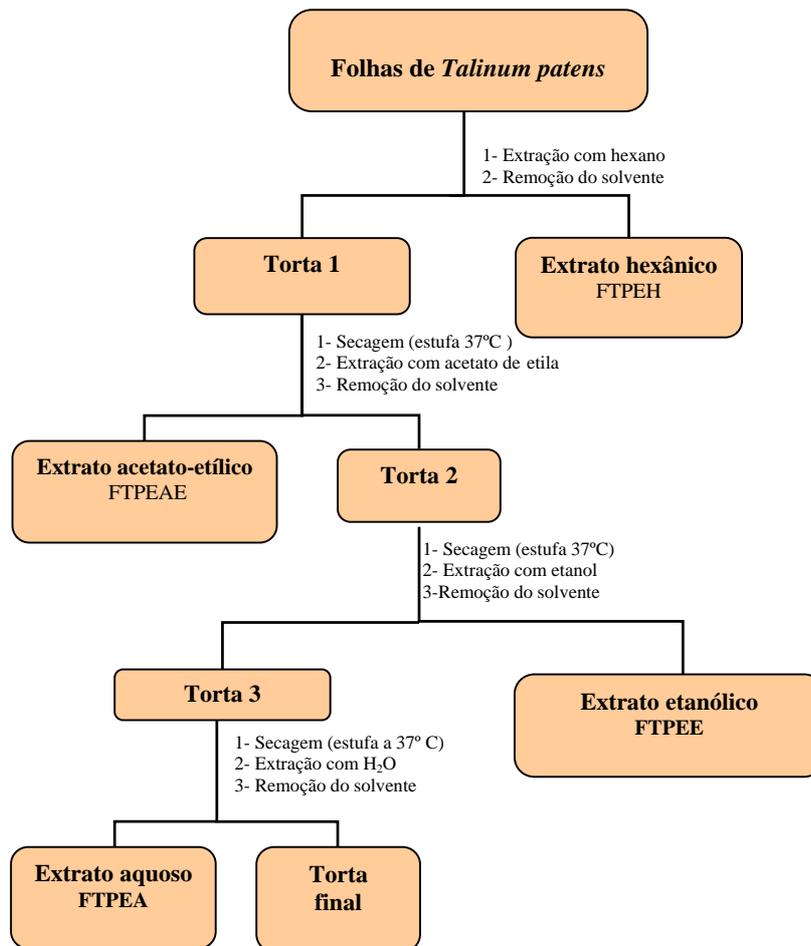


Figura 6.1 – Fluxograma de extração das folhas de *Talinum patens*.

6.7 – Extração em caules de *Talinum patens*

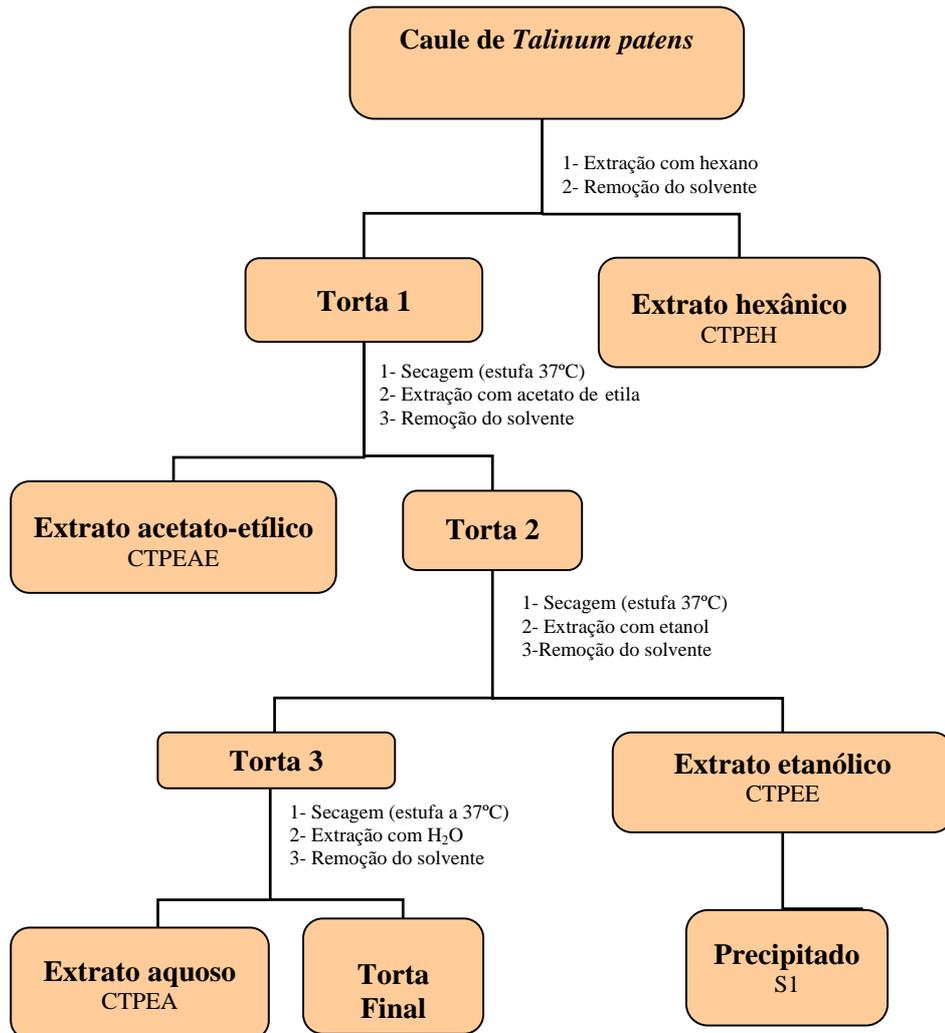


Figura 6.2 – Fluxograma de extração dos caules de *Talinum patens*.

6.8 – Extração em raízes de *Talinum patens*

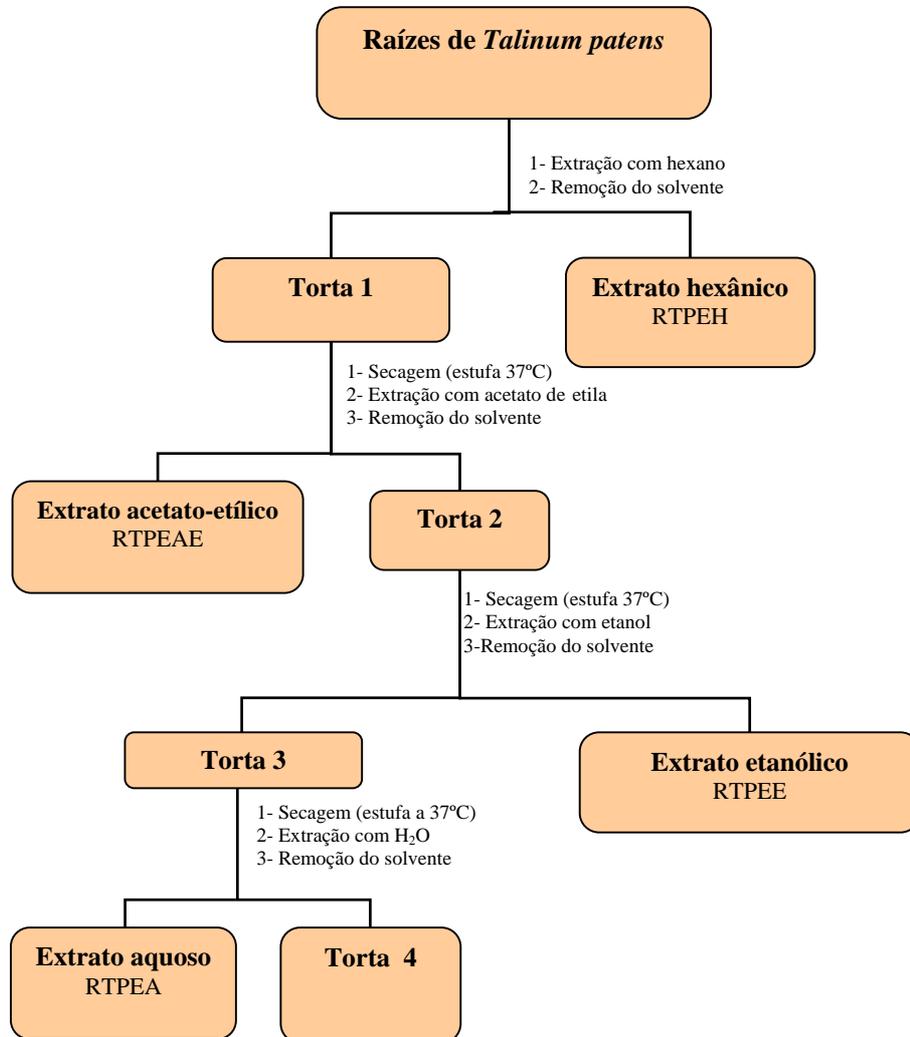


Figura 6.3 – Fluxograma de extração das raízes de *Talinum patens*.

7 – Resultados e discussões

Seguindo a metodologia descrita, triplicatas de amostras foram analisadas por ativação neutrônica instrumental. Os resultados das tabelas 7.1, 7.3, 7.4, 7.6 foram obtidos a partir de média geométrica. Os tratamentos estatísticos dos dados estão no apêndice deste trabalho (pág. 79). Nos procedimentos de prospecção fitoquímica foi adotado o sistema de duplicatas. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 7.2, 7.5 e 7.7, a seguir.

7.1 - Resultados de AANI em folhas “in-natura” e extratos

Tabela 7.1 – Resultados da análise elementar a partir de folhas de *Talinum patens*

Teor de elementos nas amostras analisadas (µg/g)					
Elementos	"In- natura"	Extrato hexânico	Extrato acetato-etílico	Extrato etanólico	Extrato aquoso
Na	112	-	84,6	-	315
K	52061	1177	8166	-	1590
Sc	1,7	0,33	-	-	-
Cr	26,4	24,3	6,7	4,8	-
Fe	5252	1287	-	-	45,1
Co	2,7	0,41	0,22	0,26	-
Zn	89	29,2	34,1	19	11,1
Ga	2,8	0,43	-	-	-
As	0,94	-	-	-	-
Rb	26,9	95,3	-	36,3	-
Sb	0,72	0,24	-	-	-
Cs	1,1	-	-	-	-
La	7,6	0,3	0,11	-	-
Ce	16,1	6,2	-	-	-
Hf	1,2	0,32	-	-	-
W	11,9	11,8	16,7	-	-
Au	0,02	0,01	0,01	-	-
Th	1,5	0,56	-	-	-

- não detectado

7.1.1 – Dispersão dos resultados de AANI em folhas “in-natura” e extratos

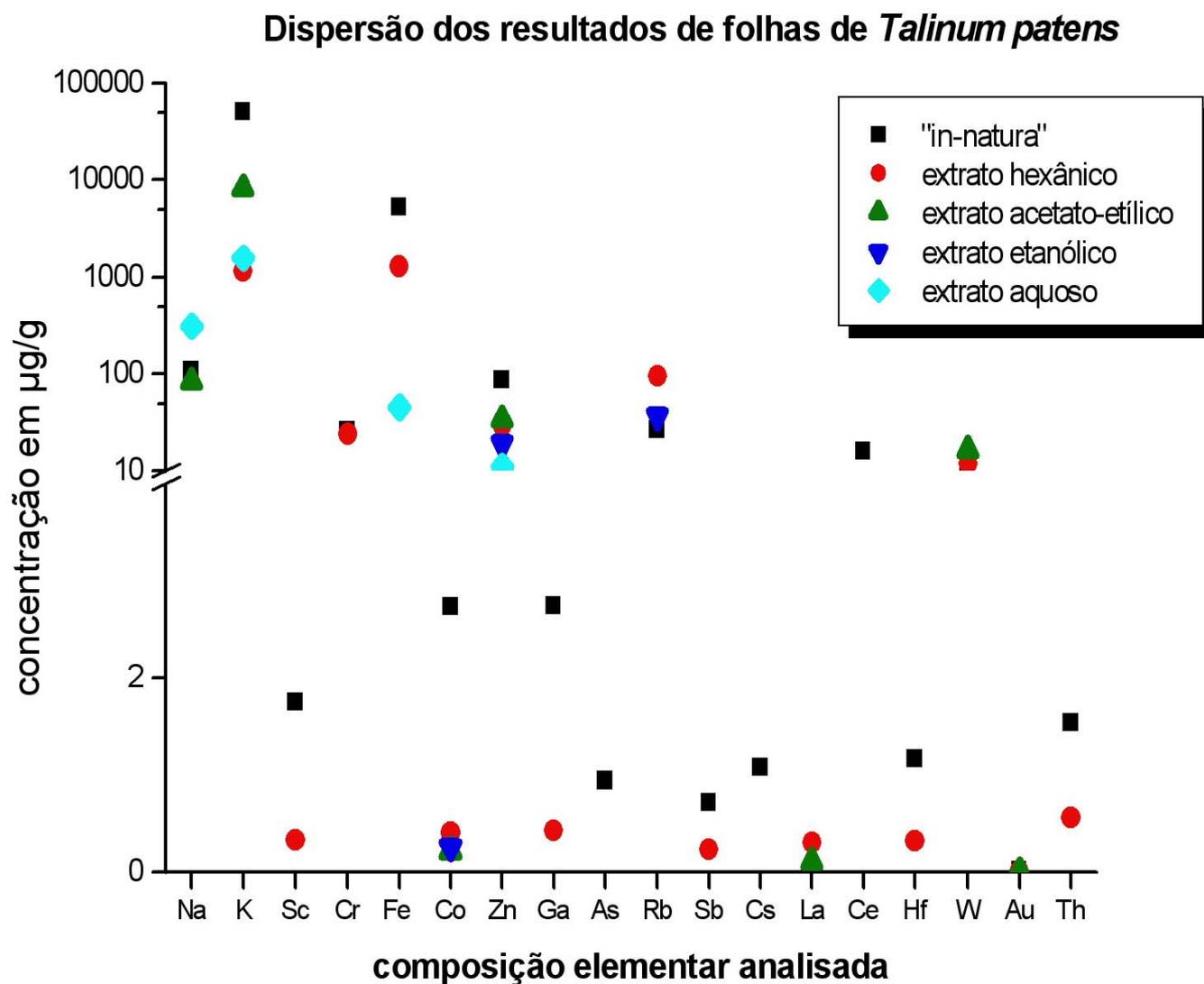


Figura 7.1 - Dispersão de resultados obtidos para as folhas de *Talinum patens* “in natura” e seus diferentes extratos.

7.1.2 – Prospecção fitoquímica em folhas “in-natura” e extratos

Tabela 7.2 - Resultados da prospecção fitoquímica para folhas de *Talinum patens*

Testes de prospecção fitoquímica para folhas de <i>Talinum patens</i>						
Metodologia adotada		Amostras				
Classes de compostos Orgânicos	Reagentes utilizados	“In-natura”	extrato hexânico	extrato acetato-etílico	extrato etanólico	extrato aquoso
Flavonóides	Cloreto de Alumínio 5%	positivo	negativo	positivo	positivo	positivo
Alcalóides	Dragendorf	positivo	negativo	positivo	positivo	positivo
Cumarinas	KOH 10%	positivo	negativo	positivo	negativo	positivo
Triterpenos / Esteróides	Liebermann-Burchard	positivo	positivo	negativo	negativo	negativo
Saponinas	Vanilina	positivo	negativo	positivo	positivo	positivo
Taninos / Polifenóis	Cloreto férrico	positivo	negativo	positivo	positivo	positivo

As análises das folhas “in-natura” revelaram elevadas concentrações de potássio e ferro se comparado aos demais elementos determinados. Também foram determinados teores significativos tanto de cromo, zinco e rubídio quanto de cério, lantânio e tungstênio. Com base na literatura, estes últimos metais em plantas ocorrem em concentrações extremamente baixas ou são raramente encontrados. Os elementos cério, escândio, gálio, antimônio, tungstênio e tório se apresentaram em teores consideráveis para uma matriz biológica. Não foi encontrada na literatura descrição da função destes metais em plantas. É de conhecimento que metais de transição são propensos a formar complexos com alguma facilidade. Através dos resultados apresentados na Tabela 7.1, é possível verificar concentrações consideráveis de ferro, zinco e cromo nas folhas. Os elementos háfnio e cobalto também foram encontrados,

porém, em concentrações menores. Fato justificável, uma vez que geralmente suas concentrações no solo também são baixas. Sabe-se que a composição química elementar é adquirida pela planta através do solo e sua distribuição através de suas partes ocorre por diversos mecanismos já elucidados (EPSTEIN, 1972). Estes resultados podem ser mais bem compreendidos, realizando-se estudos mais detalhados da composição química elementar do solo no qual a planta se desenvolveu.

Por outro lado, sabe-se que folhas de *Talinum patens* são utilizadas pela cultura popular como componente de saladas e, portanto, são ingeridas na forma “in-natura”. A análise elementar demonstra a qual composição química o indivíduo que faça o uso dessa planta estará submetido. Assim, informalmente, usuários foram questionados sobre possíveis distúrbios, mas em todos os casos nada foi constatado.

O estudo da contribuição nutricional elementar fornecida por vegetais é objeto de diversos estudos pelo mundo. Um artigo publicado por Mark P. Elless, et al. (2000), revela que não ocorre a total liberação do conteúdo elementar de vegetais no sistema digestivo. Portanto, a análise elementar não é indicada como única ferramenta de avaliação da real contribuição nutricional. Neste contexto, o elemento cromo foi detectado nas folhas “in-natura” em nível considerado elevado. De acordo com a *U.S. Environmental Protection Agency*, valores acima de 0,1 µg/g de cromo representam risco toxicológico. Assim, sugere-se sejam realizados estudos epidemiológicos visando a verificação de possível relação entre esse metal e prevalência de doenças, ainda que tardia, na população que faça uso das folhas de *Talinum patens*.

A Tabela 7.2 mostra que através da prospecção fitoquímica verificou-se a presença de flavonóides, alcalóides, cumarinas, triterpenos, esteróides, saponinas, taninos e polifenóis nas folhas de *Talinum patens*.

Os elementos presentes nas folhas de *Talinum patens* e os metabólitos secundários podem se relacionar por via metabólica, de forma a aumentar ou diminuir as concentrações dos produtos de metabolismo secundário, ou por interações químico-biológicas. Compostos fenólicos (Tabela 4.1), triterpenos (Tabela 4.2) e alcalóides (tabela 4.3) possuem elétrons pi (π) que podem facilmente interagir com íons dos elementos que constituem a composição química elementar. Estudos mais aprofundados visando o isolamento de metabólitos secundários que interajam com esses elementos presentes na composição química elementar trará maior elucidação, já que diversas atividades biológicas são atribuídas as essas classes de compostos.

Avaliar as relações entre composição química elementar e metabólitos secundários pode contribuir para o desenvolvimento da nova área de pesquisa conhecida como engenharia de metabolismo. Esta área se ocupa em estudar as vias metabólicas de compostos que possuem atividades biológicas. Conhecendo-se estas vias e suas relações com a composição química elementar é possível interferir de modo a aumentar a produção do metabólito secundário de interesse. Neste contexto, a análise elementar se torna ferramenta indispensável. Como exemplo a hipericina, um metabólito secundário da planta *Hypericum perforatum*, conhecida popularmente como erva de São João, possui atividade antidepressiva e está presente em quantidades satisfatórias somente nas plantas que são cultivadas em alguns tipos de solo (ZOBAYED, 2004). De fato, diversos fatores interferem na produção de substâncias em plantas. Como exemplo a quantidade de luminosidade, período chuvoso e também a composição elementar do solo. A hipericina, mostrada na figura abaixo é satisfatoriamente extraída com acetato de etila. Possui sistema pi (π) conjugado, o que facilita a interação com metais, principalmente de transição.

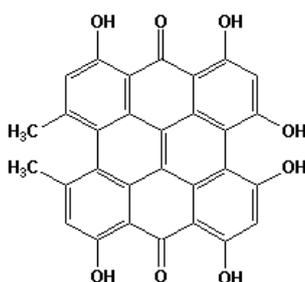


Figura 7.2 – Estrutura da hipericina.

As determinações no extrato hexânico permitem verificar que as concentrações dos elementos, de um modo geral, apresentaram um decréscimo em relação à amostra “in-natura”. No entanto, os elementos foram extraídos das folhas de modo mais eficiente se comparado aos demais extratos obtidos utilizando solventes de polaridade maior (Tabela 7.1). Os elementos arsênio, céσιο, sódio não foram detectados neste extrato. Supõe-se que estes elementos estão abaixo do limite de detecção ou estão interagindo com moléculas que não são extraídas por hexano. Foram observadas altas concentrações de potássio, ferro, cromo e tungstênio em relação aos demais elementos, seguindo tendência da análise “in-natura”.

De modo interessante, houve concentração de rubídio no extrato hexânico, cujo valor médio atingiu 95,3 $\mu\text{g/g}$, enquanto a análise “in-natura” apresentou valor médio de 26,9 $\mu\text{g/g}$.

No trabalho de Ramos, 2003 foi isolado do extrato hexânico das folhas um éster de cadeia longa, denominado nonacosanoato de nonacosila. Entre os átomos de oxigênio dessa molécula a desidade eletrônica é mais elevada, assim é possível que existam complexações ou interações com os metais determinados neste extrato.

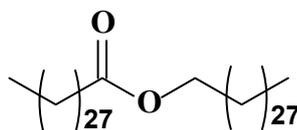


Figura 7.3 – Estrutura do nonacosanoato de nonacosila.

Foram realizadas tentativas, porém sem sucesso, de estabelecer relações entre as concentrações determinadas e propriedades periódicas como raio atômico, eletronegatividade, densidade, volume atômico.

A prospecção fitoquímica mostrou somente a presença de triterpenos e esteróides no extrato hexânico. Triterpenos e esteróides possuidores de elétrons pi (π) podem interagir com os elementos químicos presentes nas plantas, uma vez que são absorvidos na forma de íons, sendo prontamente quelados (EPSTEIN, 1972). Tais relações poderiam ser verificadas através de procedimentos de separação de triterpenos e esteróides seguidos de espectroscopia de massas, conforme já foi realizado por Fernandez et. al., 2002 na separação e análise de flavonóides complexados com ferro e cobre.

No extrato acetato-etílico não foram detectados os elementos tório, háfnio, cério, césio, antimônio, rubídio, arsênio, gálio, ferro e escândio. As concentrações destes elementos estão abaixo do limite de detecção da técnica ou eles não estão presentes no extrato acetato-etílico. Observa-se que as maiores partes dos elementos de transição, exceto ferro estão presentes neste extrato. Observa-se também que os elementos potássio, zinco, tungstênio e sódio apresentam concentrações mais elevadas em relação àquelas encontradas no extrato hexânico. Assim, é possível dizer que os elementos têm o comportamento de se concentrarem em determinados extratos em detrimento de outros. Acredita-se que esse comportamento é devido às interações dos elementos que fazem parte da composição química elementar com as diferentes moléculas extraídas pelo acetato de etila (Tabela 7.2). Dos metais mais comuns encontrados em matrizes biológicas, os elementos sódio (84,6 $\mu\text{g/g}$), potássio (8166 $\mu\text{g/g}$) e zinco (34,1 $\mu\text{g/g}$) foram detectados em níveis condizentes com dados disponíveis na literatura (Tabela 4.4), ou seja, sódio de 20 a 1600 $\mu\text{g/g}$; potássio de 1000 a 30000 $\mu\text{g/g}$ e zinco de 1 a 400 $\mu\text{g/g}$ (MARSCHNER, 1985).

No trabalho de Ramos, 2003 isolou-se do extrato acetato-etílico dois metabólitos secundários. O β -sitosterol glicosilado e o Estigmasterol. Em ambos encontram-se regiões onde é possível ocorrer complexações entre as referidas moléculas e os elementos químicos determinados no extrato acetato-etílico.

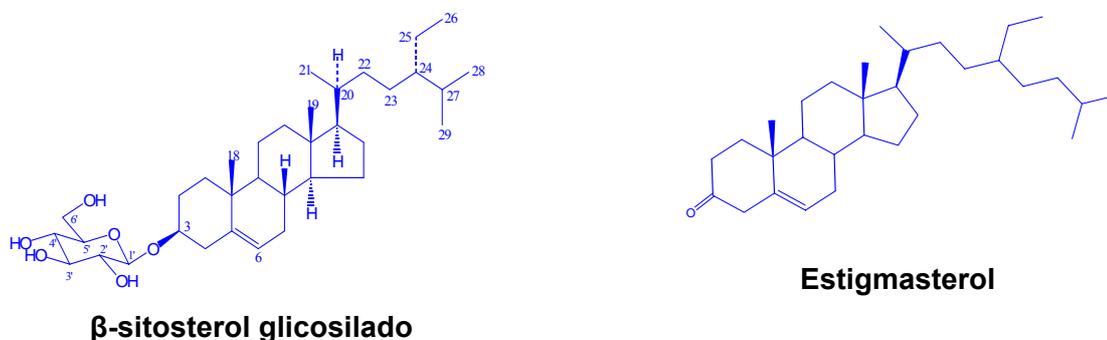


Figura 7.4 – Estrutura do β -sitosterol glicosilado e Estigmasterol.

O extrato em etanol deve conter compostos químicos com uma polaridade maior que os encontrados nos extratos em hexano e em acetato de etila. Assim, propiciaria uma disponibilidade maior para solvatação de íons metálicos. Porém, observa-se que a maior parte dos elementos não foi encontrada. Assim, a hipótese de que a maior parte dos elementos químicos não se encontra nas folhas na forma de “íons livres”, mas interagindo com moléculas ou metabólitos secundários de polaridade menor pode ser fundamentada. Por outro lado, a literatura relata que os flavonóides são preferencialmente extraídos por etanol e formam quelados com ferro e cobre nas posições 3, 5, 3' e 4' do esqueleto flavônico (FERNANDEZ, 2002).

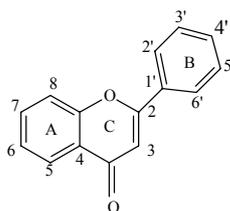


Figura 7.5 – Fórmula geral do esqueleto carbônico para flavonóides.

A análise do extrato aquoso torna-se importante por tratar-se de uma das principais formas populares de uso das folhas, ou seja, na forma de chá ou decocto para tratamento de males como o escorbuto. Somente os metais sódio, potássio, ferro e zinco foram detectados nesse extrato. Uma vez que extrações anteriores foram realizadas, estes resultados são coerentes. A análise do extrato aquoso possibilita supor que os elementos químicos presentes

nas folhas, de uma forma mais geral, têm o comportamento de se concentrarem nos extratos de polaridade mais baixa. Realizou-se ainda extração aquosa de folhas não seqüencial, ou seja, sem nenhuma extração anterior com solventes orgânicos, usando aparelho Soxhlet, objetivando a simulação da forma popular de uso. Os resultados estão na tabela 7.3 a seguir:

Tabela 7.3 – Resultados da análise elementar do extrato aquoso não seqüencial de folhas de *Talinum patens*

Elementos	Extrato Aquoso ($\mu\text{g/g}$)
Na	325
K	1540
Sc	-
Cr	5,2
Fe	45,1
Co	0,30
Zn	30,5
Ga	-
As	-
Rb	35,8
Sb	-
Cs	-
La	-
Ce	-
Hf	-
W	-
Au	-
Th	-

- não detectado

Comparando os resultados do extrato aquoso (Tabela 7.3) e etanólico (tabela 7.1), observa-se o somatório aproximado dos elementos químicos encontrados no extrato etanólico e no extrato aquoso separadamente. Devem ser ressaltadas que elevadas concentrações de cromo foram também determinadas assim como a amostra “in-natura”. Considerando-se que esses extratos se aproximam das formas populares de uso das folhas de *Talinum patens*, seja como chá ou como decocto pela população, deve-se ter cuidado com este uso, devido à

presença de cromo nessas preparações. Aplica-se, então, a sugestão de estudos epidemiológicos à população que faz uso das folhas de *Talinum patens*.

7.2 - Resultados de AANI em caules “in-natura” e extratos

Tabela 7.4 – Resultados da análise elementar a partir de caules de *Talinum patens*

Teor de elementos nas amostras analisadas (µg/g)					
Elementos	"In- natura"	Extrato hexânico	Extrato acetato-etílico	Extrato etanólico	Extrato aquoso
Na	115	176	294	576	335
K	64670	-	422	72712	2908
Sc	0,27	0,02	0,02	0,01	-
Cr	13,4	6,7	10,1	3,0	-
Fe	880	218	-	-	-
Co	0,41	0,21	-	0,12	-
Zn	27,6	35,3	19,5	21,1	86,5
Ga	-	0,20	-	-	-
As	0,36	0,21	1,9	-	-
Rb	40,4	-	-	333	286
Sb	0,18	0,18	-	-	-
Cs	-	-	-	0,59	-
La	2,3	0,18	-	-	-
Ce	3,7	-	-	-	-
Hf	-	-	-	-	-
W	4,8	0,18	29,7	-	-
Au	-	0,01	0,02	0,01	-
Th	0,31	-	-	-	-

- não detectado

7.2.1 – Dispersão dos resultados de AANI em caules “in-natura” e extratos

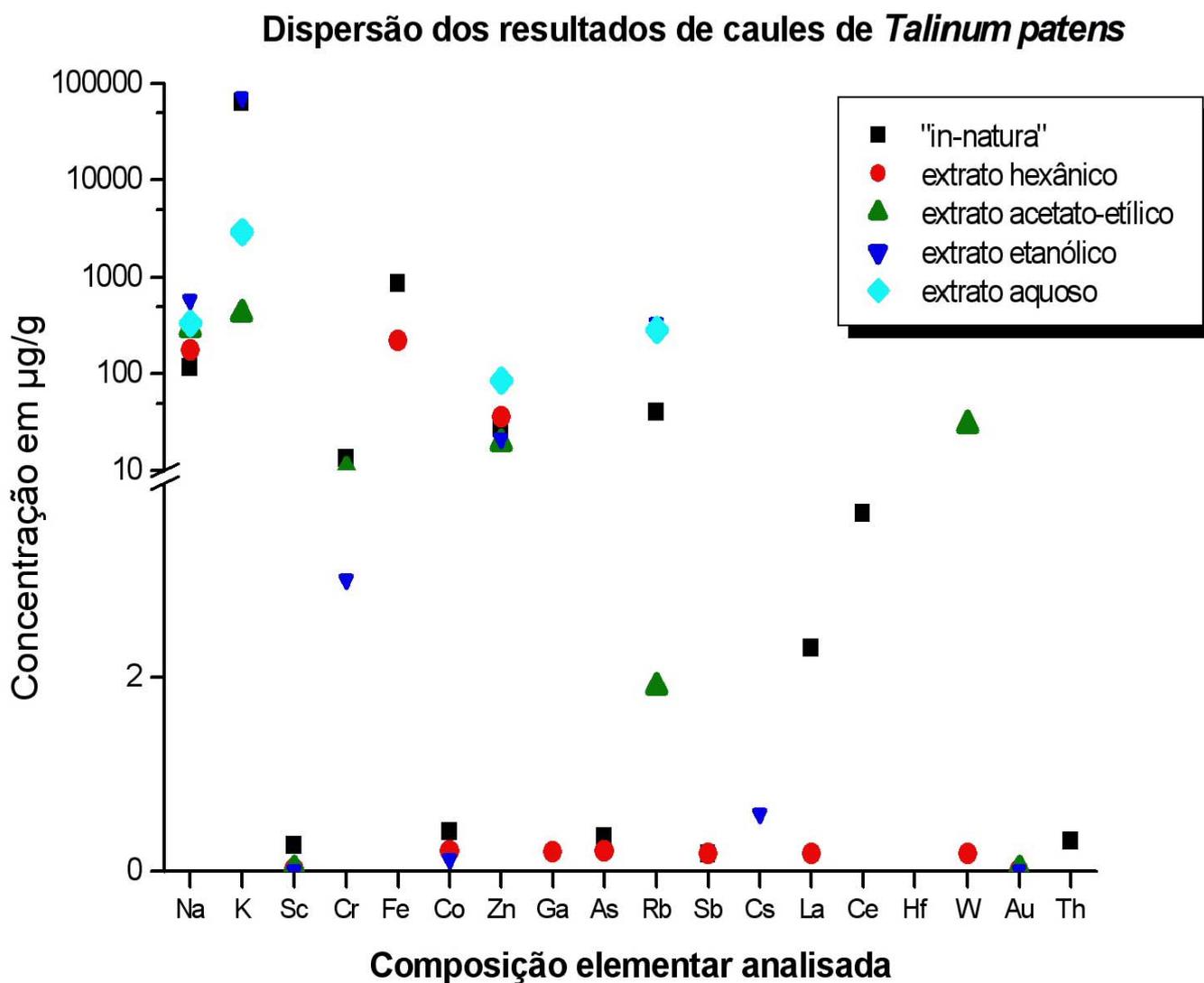


Figura 7.6 – Dispersão de resultados obtidos para caules de *Talinum patens* “in natura”.

7.2.2 – Prospecção fitoquímica em caules “in-natura” e extratos

Tabela 7.5 – Resultados da prospecção fitoquímica para caules de *Talinum patens*

Testes de prospecção fitoquímica para caules de <i>Talinum patens</i>						
Metodologia adotada		Amostras				
Classes de compostos Orgânicos	Reagentes utilizados	“In-natura”	extrato hexânico	extrato acetato-etílico	extrato etanólico	extrato aquoso
Flavonóides	cloreto de Alumínio 5%	positivo	negativo	positivo	positivo	positivo
Alcalóides	Dragendorf	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
Cumarinas	KOH 10%	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Triterpenos / Esteróides	Liebermann-Burchard	positivo	positivo	positivo	negativo	negativo
Saponinas	Vanilina	positivo	negativo	positivo	positivo	positivo
Taninos / Polifenóis	Cloreto férrico	positivo	negativo	negativo	positivo	positivo

As análises do caule “in natura” mostram que as concentrações determinadas apresentam um comportamento similar ao das análises das folhas “in-natura”. Foram determinadas elevadas concentrações de potássio e ferro, em relação aos demais elementos, assim como as amostras de folhas “in natura”. Concentrações elevadas de potássio também foram relatadas em outro trabalho, onde o metal apresentou-se em grande parte precipitado na forma de nitrato (RAMOS, 2003). Os elementos gálio, cério e ouro não foram detectados, sugerindo que as concentrações destes, estão abaixo do limite de detecção da técnica, já que são encontrados nas análises dos extratos do caule. O elemento háfnio não foi observado em

nenhum dos extratos preparados. Também foram realizadas tentativas, porém sem sucesso, de estabelecer relações entre as concentrações determinadas e propriedades periódicas.

A prospecção fitoquímica do caule “in-natura” mostrou a presença de flavonóides, alcalóides, triterpenos, esteróides, saponinas, taninos e polifenóis. A relação entre estes metabólitos secundários e metais de transição formando quelados deve ser um fator a ser considerado. Neste contexto, observam-se reduções das concentrações de todos os metais de transição analisados em relação às amostras “in-natura”. Uma observação importante: Na análise de folhas “in-natura” todos os elementos analisados foram determinados, bem como todas as classes de compostos orgânicos. A análise de caules “in natura” apresenta determinações de todos os elementos analisados, exceto gálio, céσιο, háfnio e ouro. A prospecção fitoquímica revelou também todas as classes de compostos orgânicos, exceto para cumarinas. A presença de elétrons pi (π) das cumarinas (tabela 4.1) serve para fundamentação a esta suposição. Fato importante na análise do caule é a de abrir perspectivas de estudo com relação às vias metabólicas às quais os elementos estão envolvidos, já que o caule é uma estrutura responsável pelo transporte de substâncias.

No extrato hexânico do caule, não foi determinado o elemento potássio, presente em elevadas concentrações na amostra “in natura”. Contudo, altas concentrações de potássio foram encontradas no extrato hexânico da folha, sugerindo-se assim, que o elemento no caule se encontra em uma forma química diferente daquela encontrada no extrato hexânico das folhas. O potássio pode estar atuando como um contra-íon de um complexo organometálico nas folhas e de outro tipo não presente nos caules.

Observa-se também, um aumento das concentrações de sódio, zinco e gálio no extrato hexânico em relação à amostra “in natura”. Assim, supõem-se a afinidade destes com moléculas de polaridade mais baixa ou ainda aquelas que possuem elétrons pi (π). No trabalho de Ramos, 2003 isolou-se do extrato hexânico dos caules o ácido heneicosanóico e o ácido 3 β -acetil-aleuritólico, ambos possuidores de elétrons pi (π).

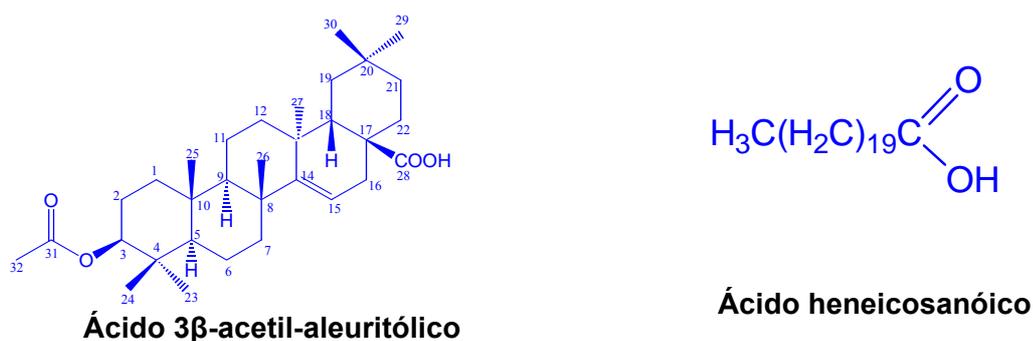


Figura 7.7 – Estruturas dos ácidos heneicosanóico e 3 β -acetil-aleuritólico.

As concentrações de arsênio, cromo, ferro, cobalto, lantânio, e tungstênio estão mais baixas em relação às encontradas na amostra “in natura”, demonstrando assim a possibilidade de estarem complexados ou estarem interagindo com moléculas cuja polaridade é maior, ou ainda, estarem atuando como contra-íons de complexos.

Os resultados do extrato acetato-etílico revelam um aumento das concentrações dos elementos sódio, arsênio e tungstênio, em relação os resultados da mostra “in natura”. A presença de potássio contribui de modo favorável à suposição que este pode estar sob interação de moléculas de ambiente químico mais polar ou estar na forma de contra-íon de um complexo mais polar. Os elementos, ferro, cobalto, rubídio, antimônio, lantânio, arsênio e cério não foram detectados, uma vez que foram determinados na amostra do caule “in natura”.

A prospecção fitoquímica do extrato acetato-etílico do caule revela a presença de alcalóides, triterpenos, esteróides, saponinas, taninos e polifenóis. No extrato etanólico dos caules, observa-se elevada concentração de potássio, sugerindo assim um perfil de solubilidade maior em etanol a quente, extraído por aparelho Soxhlet. Comportamento diferente ao observado no extrato em etanol das folhas, que não apresentam o elemento potássio. Através dos resultados, observam-se concentrações elevadas de sódio, rubídio e cério em relação àquelas determinadas nas amostras “in natura”. Desse extrato isolou-se um sólido branco chamado de “S1”. Através de determinação do ponto de fusão (maior que 450°C), análise por ativação neutrônica e espectrometria no infravermelho. Assim, concluiu-se que sua composição há em maior quantidade de nitrato de potássio e menor quantidade de nitrato de cromo e nitrato de rubídio. A figura 7.8 apresenta o seu espectro no infravermelho. Neste espectro são observadas bandas de absorção, larga e intensa em 1385cm^{-1} e 825cm^{-1} , provenientes de estiramentos axiais assimétricos e simétricos de ligações N-O, característicos de nitratos (SILVERSTAIN, 2000).

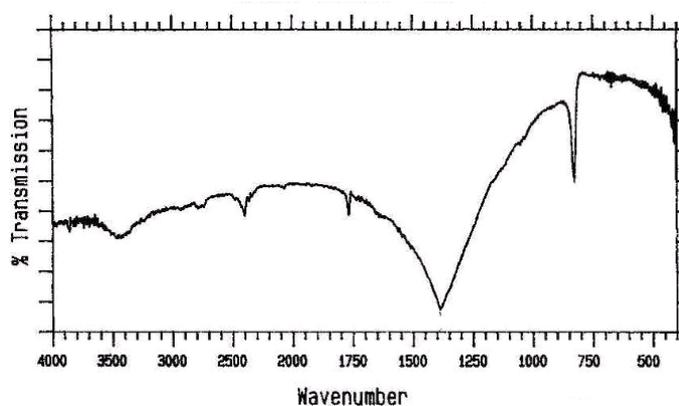


Figura 7.8 – Espectro no Infravermelho para S1.

A prospecção fitoquímica mostra a presença de flavonóides, alcalóides, saponinas, taninos e polifenóis. Apesar do extrato etanólico (tintura) do caule desta planta não ser uma forma comum de uso pela população, não se exclui existência de risco de ingestão de elevadas quantidades de nitrato de potássio. De fato, não se observa o uso dos caules pela população para tratamento de males, porém, devem ser realizados estudos mais detalhados à respeito do uso dos caules como tintura, bem como a incidência de doenças.

7.3 - Resultados de AANI em raízes “in-natura” e extratos

Tabela 7.6 – Resultados da análise elementar a partir de raízes de *Talinum patens*

Teor de elementos nas amostras analisadas (µg/g)					
Elementos	"In- natura"	Extrato hexânico	Extrato acetato-etílico	Extrato etanólico	Extrato aquoso
Na	255	121	13,4	364	335
K	27309	1231	338	1488	2908
Sc	8,8	2,7	2,8	4,3	-
Cr	101	25,3	83,8	52,2	-
Fe	27696	1236	1241	208507	23278
Co	4,1	3,3	3,6	1,3	-
Zn	82,2	12,0	36,5	10,9	1169
Ga	6,8	1,1	-	1,3	-
As	3,2	3,7	1,2	2,4	135
Rb	64,9	22,9	-	9,5	-
Sb	1,2	-	1,3	-	0,1
Cs	1,2	0,35	-	0,24	-
La	53,8	-	0,30	18,1	-
Ce	74,9	-	-	44,8	0,1
Hf	5,5	2,4	-	1,3	-
W	0,92	4,9	-	0,24	-
Au	0,01	-	-	-	-
Th	8,1	-	-	1,43	-

- não detectado

7.3.1 – Dispersão dos resultados de AANI em raízes “in-natura” e extratos

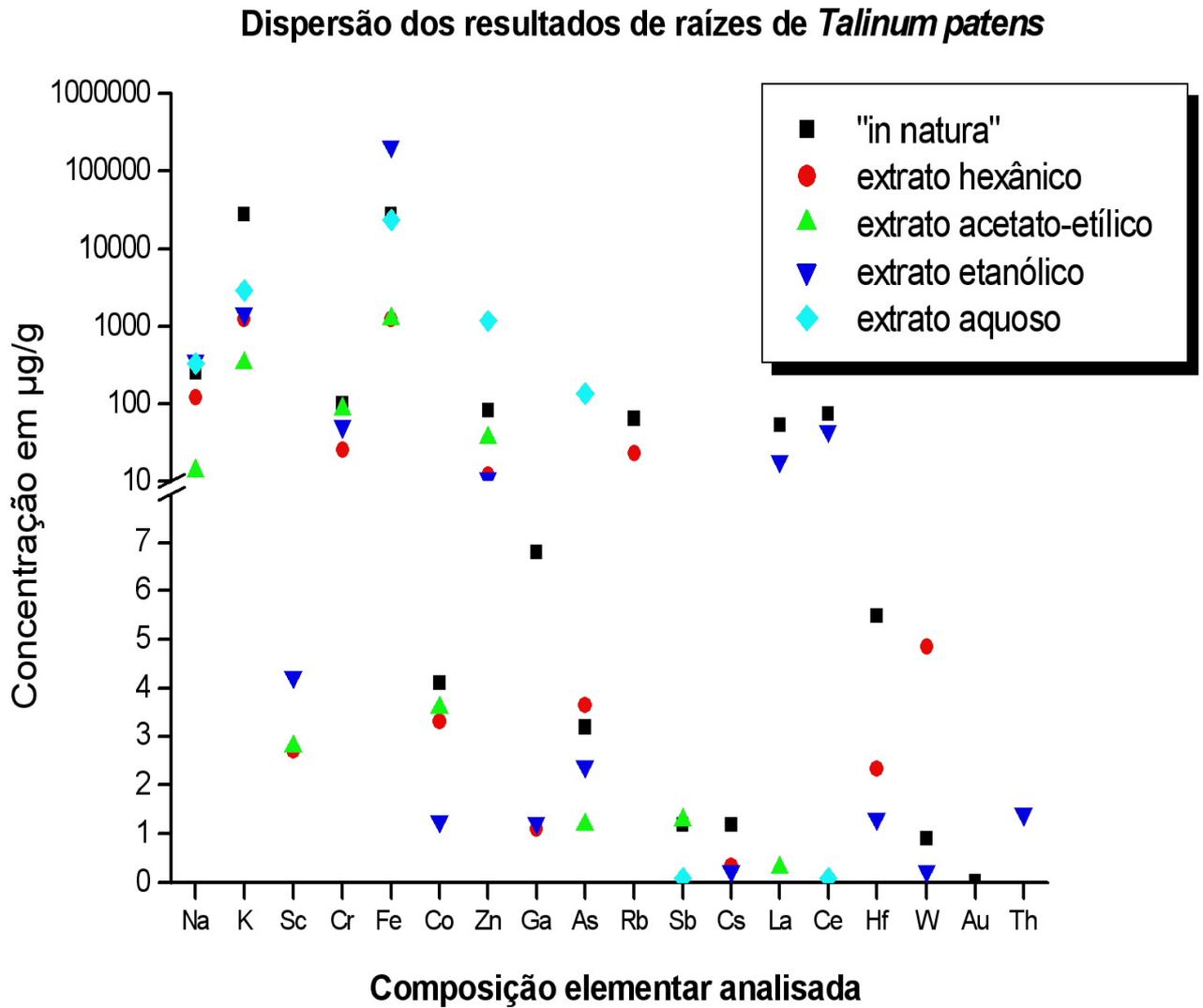


Figura 7.9 - Dispersão de resultados obtidos para as raízes de *Talinum patens* “in natura” e seus diferentes extratos.

7.3.2 – Prospecção fitoquímica em raízes “in-natura” e extratos

Tabela 7.7 – Resultados da prospecção fitoquímica para raízes de *Talinum patens*

Testes de prospecção fitoquímica para raízes de <i>Talinum patens</i>						
Metodologia adotada		Amostras				
Classes de compostos Orgânicos	Reagentes utilizados	“In-natura”	extrato hexânico	extrato acetato-etílico	extrato etanólico	extrato aquoso
Flavonóides	Cloreto de Alumínio 5%	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Alcalóides	Dragendorf	positivo	negativo	negativo	positivo	positivo
Cumarinas	KOH 10%	positivo	negativo	positivo	positivo	positivo
Triterpernos / Esteróides	Liebermann-Burchard	positivo	negativo	negativo	positivo	negativo
Saponinas	Vanilina	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
Taninos / Polifenóis	Cloreto férrico	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo

A análise elementar de amostras “in natura” de raízes, se comparada a outras partes da planta, pode revelar características do metabolismo mineral da planta. Assim, é possível identificar elementos que possuem maior concentração na raiz em detrimento a outras partes. Observa-se também a ordem crescente de concentração do elemento potássio, como Raiz > Caule > Folha. Fato este observado para a maioria dos elementos. O elemento Hf, assim como o Th, possuem concentrações mais elevadas na raiz que a determinada no caule “in natura”. Assim como em outras partes da planta, observam-se altas concentrações dos elementos potássio e ferro, tendo este apresentado uma concentração muito acima que aquelas

encontradas nas outras partes da planta. Fato justificado pelas altas concentrações de ferro encontrado nos solos do estado de Minas Gerais.

Assim, a pesquisa multidisciplinar é etapa fundamental na busca da compreensão dos mecanismos bioquímicos os quais a área de produtos naturais está inserida. Um artigo publicado no ano de 1986 por Evans, M. L. apresenta um modelo em que o elemento cálcio realiza um importante papel para a percepção da gravidade pelas raízes das plantas. Também foram executadas tentativas, porém sem sucesso, de estabelecer relações entre as concentrações determinadas e propriedades periódicas.

A prospecção fitoquímica das raízes “in-natura” revela a presença de alcalóides, cumarinas, triterpenos, esteróides, saponinas, taninos e polifenóis. Estes resultados propiciam uma maior elucidação das relações entre composição elementar e metabolismo secundário realizado nas raízes.

No extrato hexânico não foram determinados os elementos antimônio, lantânio, cério, ouro e tório. Concentrações elevadas de ferro e potássio também foram observadas. Também foram determinados metais de transição com concentrações consideráveis, porém normais em se tratando de plantas. Observa-se um aumento de concentração de tungstênio se comparado à amostra “in-natura”.

A prospecção fitoquímica do extrato hexânico revelou teste positivo somente para saponinas e polifenóis. Sugere-se, então, possível relação entre membros da composição química elementar não determinados e metabólitos secundários também não determinados. Assim, sugere-se também possíveis relações entre a composição química elementar e os metabólitos secundários saponinas e/ou polifenóis.

No extrato acetato-etílico os elementos gálio, rubídio, cério, háfnio, tungstênio, ouro e tório não foram detectados. Observou-se diminuição na concentração dos elementos sódio, potássio em relação ao extrato hexânico. O elemento cromo apresentou concentração mais elevada em relação ao extrato hexânico, demonstrando assim maior afinidade ao acetato de etila. Comportamento semelhante foi observado no extrato acetato-etílico do caule e de modo inverso no extrato acetato-etílico das folhas.

O elemento zinco apresentou concentração mais elevada no extrato acetato etílico se comparado ao extrato hexânico. Observou-se ainda um ligeiro aumento nas concentrações de ferro.

Através da prospecção fitoquímica no extrato acetato-etílico observou-se a presença de cumarinas, triterpenos/esteróides, saponinas, taninos e polifenóis.

Nas análises do extrato etanólico observam-se elevadas concentrações de ferro. Nota-se uma tendência mais geral de aumento das concentrações de todos os elementos, exceto cromo, cobalto e zinco, em relação aos extratos de polaridade mais baixa. Comportamento semelhante ocorre no extrato etanólico dos caules e comportamento inverso foi observado para o extrato etanólico das folhas. Os elementos lantânio, cério e tório apresentaram concentrações consideráveis, já que não foram encontrados nos extratos de polaridade menor. O extrato etanólico conhecido também como tintura não é de uso comum na cultura popular, porém esta forma farmacêutica é muito utilizada para diversos tipos de outras preparações comuns à cultura popular. Assim, não se pode excluir a possibilidade de uso do extrato etanólico das raízes de *Talinum patens*. Faz-se, então, a necessidade de estudos epidemiológicos.

A prospecção fitoquímica do extrato etanólico mostrou a presença de alcalóides, cumarinas, triterpenos/esteróides, saponinas, taninos, polifenóis. A classe dos flavonóides não foi observada, embora elementos metálicos de transição foram detectados. Assim, exclui-se a possibilidade de relações entre flavonóides e metais de transição no extrato etanólico das raízes de *talinum patens*.

O extrato aquoso ou decocto das raízes é utilizado na medicina popular como energético e revitalizante. É utilizado ainda como auxiliar no tratamento de escorbuto. Os elementos cério, cobalto, gálio, rubídio, lantânio, háfnio, tungstênio, ouro e tório não foram observados. O elemento cromo também não foi observado, o que valida o uso popular em relação à contaminação com este metal. Fato preocupante fica restrito às concentrações de arsênio determinadas, que chegaram a valores médios de 135µg/g. A OMS sugere como limite à saúde a quantidade de 100µg por dia desse metal. Sugerem-se estudos que possam simular efetivamente as reais contribuições às quais os usuários estão submetidos a essa forma popular de uso.

A prospecção fitoquímica do extrato aquoso mostrou a presença de alcalóides, cumarinas, triterpenos/esteróides, saponinas, taninos e polifenóis. Assim como os outros extratos da raiz, não se observou a presença de flavonóides. Dessa forma, a atividade biológica relatada pelo uso popular não pode ser atribuída a esse metabólito secundário. Contudo, estudos mais detalhados e multidisciplinares podem revelar relações entre o conteúdo elementar determinado neste trabalho e a capacidade curativa.

A pesquisa fitoquímica também associa o potencial de diferentes extratos frente à atividades biológicas. O termo sinergismo é aplicável, uma vez que a atividade biológica de um extrato de planta medicinal se faz, em grande parte, não pela ação de uma, mas de várias

combinações de substâncias presentes. Atividade biológica pode ser função de um conjunto de moléculas cuja orientação adequada durante reações químico-biológicas é obtida através de interações ou complexações de tais moléculas com certos elementos inorgânicos ou metais. A ação biológica pode ocorrer devido à tendências de certos metais de se acumularem em determinados tipos de extratos, por afinidade de tais elementos à moléculas cujo ambiente químico seja semelhante ao do solvente que realizou a extração.

Através desse trabalho lançam-se perspectivas de quantificação dos metabólitos secundários, estabelecendo relações entre as concentrações de metabólitos secundários nos extratos e concentração de determinados constituintes da composição química elementar.

7.4 – Diversidade nos extratos das partes de *talinum patens*

Comparando a diversidade dos elementos extraídos nos diferentes extratos, observou-se que a maior diversidade dos elementos foi encontrada nos extratos hexânicos das folhas, caules e raízes. Porém não foi observada através dos testes específicos uma grande diversidade de metabólitos secundários nos extratos hexânicos. Contudo, a continuidade de estudos, buscando elucidar as relações entre metabólitos secundários e os componentes da composição química elementar se faz necessário, a fim de contribuir para as diversas áreas do saber.

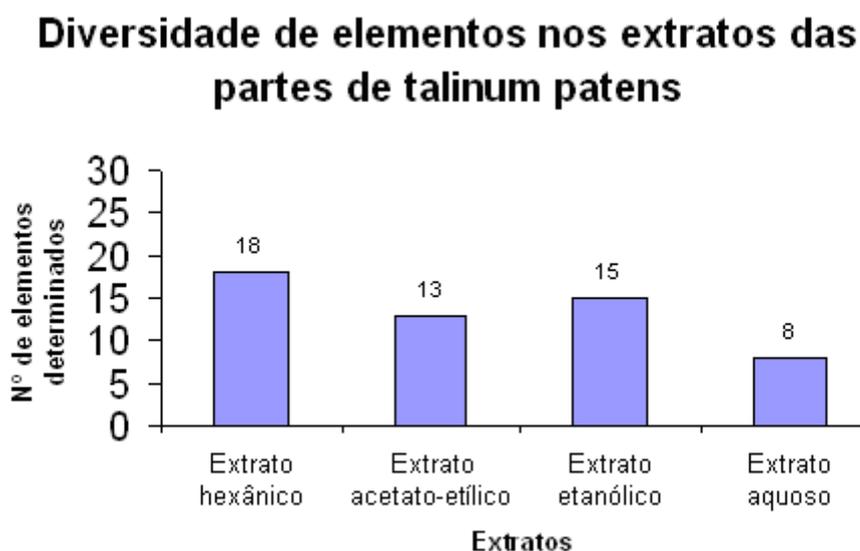


Figura 7.10 – Gráfico da diversidade dos elementos em relação aos diferentes extratos.

8 – Conclusões e perspectivas

Através dos resultados e da análise de materiais certificados verificou-se que a técnica de análise por ativação neutrônica é uma excelente ferramenta nas determinações elementares em *Talinum patens*, principalmente na detecção em nível de traços, podendo ainda desenvolver-se metodologias para controle de qualidade de fitoterápicos.

Através dos resultados ficam evidentes tendências de concentração de certos elementos em determinados extratos em detrimento de outros, sugerindo assim, possíveis relações entre os elementos detectados na composição química elementar em *Talinum patens* e que parte deles encontra-se interagida ou ligada a diferentes moléculas, formando complexos biológicos. Sugere-se então continuidade de estudos visando o isolamento e a identificação desses compostos.

Baseado nas análises de folhas de *Talinum patens* foi possível concluir que a ingestão dessas na forma “in-natura” traz maiores riscos à saúde se comparados ao uso de folhas na forma de chá ou em decocto. Conclui-se também que é necessário realizar estudos epidemiológicos envolvendo a influência das formas populares de uso na saúde humana, já que foram detectadas concentrações elevadas de cromo nas folhas “in-natura”, ou na forma de chá ou decocto.

Sugerem-se estudos que simulem as condições do trato gastrointestinal visando determinar níveis de absorção e biodisponibilidade dos elementos encontrados em *Talinum patens* simulando assim as reais contribuições nutricionais fornecidas por esta planta.

A pesquisa da constituição química elementar traz novas possibilidades, já que a relação de moléculas com a composição elementar pode trazer um incremento às atividades biológicas correlacionadas. Com o desenvolvimento atual das pesquisas, a interdisciplinaridade entre as áreas torna-se ferramenta importante para o desenvolvimento da área de produtos naturais. Através desse estudo, novos questionamentos pertinentes serão criados. Já que certos metais tendem a se concentrarem em certos extratos, tais concentrações não deveriam ser consideradas em estudos fitoquímicos tradicionais? Tais concentrações poderiam trazer benefícios ou distúrbios à saúde de indivíduos que fazem seus usos? Seria possível a justificativa de alguns saberes populares concernentes à mistura de várias plantas medicinais em um único chá ou tintura, assim como usar a composição química elementar de uma planta com os metabólitos secundários de outra?

Referências bibliográficas

ARIAS, T.D. **Glossário de Medicamentos**: Desarrollo, evaluación y uso. Washington: Organización Panamericana de La Salud. Organización Mundial de La Salud, 1999, p. 171.

BREVOORT, P. The current status of the US botanical market. In: WORLD CONGRESS ON MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS FOR HUMAN WELFARE, 1997, Mendoza. **Proceedings** New York: J. Wiley, 1997, v.2, p.42.

CALIXTO, J. B. et al. The plants of the genus *phyllanthus* as a potential source of new drugs. **Ciência e Cultura**, v. 49, p. 422-432, 1997.

CARIBÉ, J.; CAMPOS, J.M. **Plantas que ajudam o homem**. São Paulo: Círculo do Livro Pensamento, 1991.

DE BRUYNE, T. et al. Condensed vegetable tannins: biodiversity in structural and biological activities. **Biochemistry and Systematic Ecology**, v.27, p.445-459, 1999.

DE PASQUALE, A. Pharmacognosy: the oldest modern science. **Journal of Ethnopharmacology**. v.11, p.1-16. 1984.

DE CORTE, F., et al. Accuracy and Applicability of the K0-Standardization Method. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry Articles**, v. 113, p.145-161, 1987.

EHMANN, W.D. **Radiochemistry and nuclear methods of analysis**. New York: J. Wiley, 1991.

ELEMENTAL ANALYSIS INC., Disponível em:
<<http://www.elementalanalysis.com/naa>> Acesso em 15 out. 2003.

EPSTEIN, E. **Mineral nutrition of plants**. New York: J.Wiley, 1972.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of National of the Academy of Sciences**, v.91, p. 11-17, 1994.

EVANS, M.L. Role of calcium in gravity perception of plant roots. **Advances in Space Research**, v.6, n. 12, p. 61-65, 1986.

FERNADEZ, M. T.; et al. Iron and copper chelation by flavonoids: an electrospray mass spectrometry study. *Journal of Inorganic Biochemistry*, n.92, p. 105-111, 2002

GODINHO, R.O., et al. In: Simões, C. M. O., et al. **Farmacognosia**: da Planta ao Medicamento. 5 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2003 p. 247-261.

GOETTLIEB, O. R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M. R. **Biodiversidade, um enfoque químico-biológico**. Rio de Janeiro: Editora da UFRJ, 1996.

HASLAM, E.; CAI, Y. Plant Polyphenols (Vegetable Tannins): Gallic Acid Metabolism, **Natural Product Reports**, v.11, p. 41-66, 1994.

Referências bibliográficas

INTERNATION ATOMIC ENERGY AGENCY. Pratical Aspects of Operating a neutron activation analysis laboratory. Viena, 1990.(IAEA-TECDOC-564).

INTERNATION ATOMIC ENERGY AGENCY. Use of research reactors for neutron activation analysis. Vienna, 2001 p.1-88.(IAEA-TECDOC-1215)

INTERNATION ATOMIC ENERGY AGENCY. Quality aspects of research reactor operations for instrumental neutron activation analysis. Vienna, 2001, p.1-32.(IAEA- TECDOC-1218)

KAR, A.; CHOUDHARY, B.K.; BANDYOPADHYAY, N. G. Preliminary studies on the inorganic constituents of some indigenous hypoglycaemic herbs on oral glucose tolerance test. **Journal of Ethnopharmacology**, v.64, p. 179-184, 1999.

KELLER, C. **Radioquímica**. Recife: Editora da UFPE, 1981.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Editora Rima, 2000.

LASAT, M.M. Phytoextraction of toxic metals: A review of Biological Mechanisms. **Journal Enviroment quality**, v. 3, p. 109-120, 2002.

LENA Q. MA et al. A Fern that hiperaccumulates Arsenic. **Nature**, v. 409, p. 57, 2001.

LEVIN, D. A. Alkaloid-bearing plants: an ecogeographic perpective. **American Naturalist**, v. 110, p. 261-284. 1976.

MARTINS, E.R., et al. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: Editora da UFV, 2000.

MARSCHNER, H. Nährstoffdynamik in der rhizosphäre. **Berichte der Deutschen Botanischen Gessellshaft**, v. 98, p.291-309, 1985.

MATTA, F.M., LOUREIRO, M.E. Nutrição mineral de plantas. Disponível em: <<http://www.rc.unesp.br/ib/ecologia/caeco/Nutricaomin1ufv.pdf>>. Acesso em 16 ago. 2002.

MOYNA, P.; HEINZEN, H. Lípidos: Química y productos naturales que los contienen. In: Simões, C. M. O., et al. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2003 p. 325-347.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECNOLOGY. Disponível em: <www.nist.gov> Acesso em 25.nov.2003.

PINTO, A.C. Produtos naturais: Atualidade, desafio e perspectivas. **Química Nova**, v.25 n.11, 2002.

RAMOS, M. P. O. Estudo fitoquímico das partes aéreas de *Talinum patens* e avaliação das atividades antinoceptiva e antiinflamatória dos extratos hexânico e acetato-etílico das folhas. 2003. Dissertação (mestrado em química) – Departamento de Química, ICEX, Universidade Federal de Minas Gerais, 2003.

PANIZZA, S. **Plantas que curam**. 5 ed. São Paulo: Ed. IBRASA, 1998.

Referências bibliográficas

- PARDESHI, B.M.; RAJURKAR, N.S. Analysis of Some Herbal Plants from India Used in the Control of *Diabetes Mellitus* by NAA and AAS Techniques. **Applied Radiation and Isotopes**. v. 48, p. 1059-1062, 1997.
- RAJURKAR, N.S.; DAMAME, M..M. Elemental analysis of some herbal plants used in the treatment of cardiovascular diseases by NAA and AAS. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 219, p.77-80, 1997.
- RATES, S.M.K. Plants as source of drugs, **Toxicicon**. v. 39, p. 603-613, 2001.
- REDDY, S.J. et al. Determination of elemental levels in medicinally important Indian leaves by instrumental neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 238, p. 83-89, 1998.
- SAIKI, M., et al. Neutron activation analysis of medicinal plant extracts. **Journal of Radioanalytical Chemistry, articles**, v.195, n.1, p.185-193, 1995.
- SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: Simões, C. M. O., et al. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2003 p. 102-169.
- SCABERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30 , p. 3875-3883, 1991.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos . 6ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara-Koogan, 2000.
- SOLDATI, F. The registration of medicinal plants products, What quality of documentation should be required? The industrial point of view. In In: WORLD CONGRESS ON MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS FOR HUMAN WELFARE, 1997, Mendoza. **Proceedings** New York: J. Wiley, 1997 v.2, p.48.
- SCABERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3875-3883, 1991.
- SHIMODA H., et al. Javaberine A, new TNF- α and nitric oxide production inhibitor, from the roots of *Talinum paniculatum*". **Heterocycles**. v. 55, n.11, p.2043-2050, 2001
- STOKING, C.R.; ONGUN, A. The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. **American Journal of Botany**, v.49, p.284-289, 1962
- VERPOORTE, R. Some phytochemical aspects of medicinal plant research. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 25, p. 43-59, 1989.
- WINK, M. Physiology of secondary products formation in plants. In:CHARLWOOD, B.V.; RHODES, M.J.C. (Eds.). **Secondary products from plant tissue culture**. Oxford: Clarendon, 1990.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, **Quality control methods of medicinal plant materials**, Geneva, 1992.
- ZOBAYED, S. M. A. et al. In vitro production and chemical characterization of St. John's wort. **Plant Science**, vol.166, p. 333-340, 2004.

10 – Apêndice A – Análise de materiais certificados padrão

Para a garantia da qualidade das análises deste trabalho, juntamente com as amostras a serem analisadas, materiais de referencia certificados pelos NIST, acompanharam os procedimentos de análise. Os materiais certificados “GBW07602 e GBW07603, Human hair, bush Twigs and leaves” – 1573a, Tomato Leaves, são usados para a validação de resultados analíticos de análise de elementos em teores de traço, em materiais botânicos, produtos alimentícios e qualquer material de matriz similar. Foram adquiridos no ano de 2003 e acondicionados conforme instrução especificada no manual do produto. As técnicas utilizadas para certificação dos materiais incluem COLOR, CVAAS, FAES, FIA-HAAS, ICP-AES, ID-ICPMS, ID-TIMS, INAA, KJEL, LEAFS, PGAA, RNAA. Todo o material foi submetido à esterilização por irradiação gama, como uma dose estimada de 25K Gy para controle microbiológico.

Através dos dados apresentados, verifica-se que as variações das concentrações determinadas frente aos valores certificados, de uma maneira geral, são pequenas, Isto conduz a validação da análise de matrizes botânicas aos parâmetros da técnica empregada como: fluxo de nêutrons aferido, tempo de irradiação e decaimento adequados, limite de detecção e calibração do detector de espectrometria gama, bem como os procedimentos e características próprias do laboratório de radioquímica do CDTN estão em conformidade, uma vez que erros de até 1µg/g são aceitáveis frente as características da técnica. A xcto para os resultados dos elementos Sb e Cs (SAIKI, 1995). As tabelas e figuras que seguem representam os resultados obtidos.

Tabela 10.1 – Análise do material de referência certificado – GBW07602

GBW07602 Hair human, bush and Leaves		
Elementos determinados	Concentração neste trabalho	Valor certificado Nist
Sc	0,32	0,31±0,02
Cr	3,6	2,3± 0,2
Fe	1030	1020±40
Co	0,46	0,39±0,03
Zn	24,0	20,6±1
Rb	4,1	4,2±0,2
Sb	0,31	0,078± 0,015
Cs	0,28	0,27±0,02
Ce	2,9	2,4± 0,2
Hf	0,10	0,14± 0,03
Th	0,41	0,37± 0,02

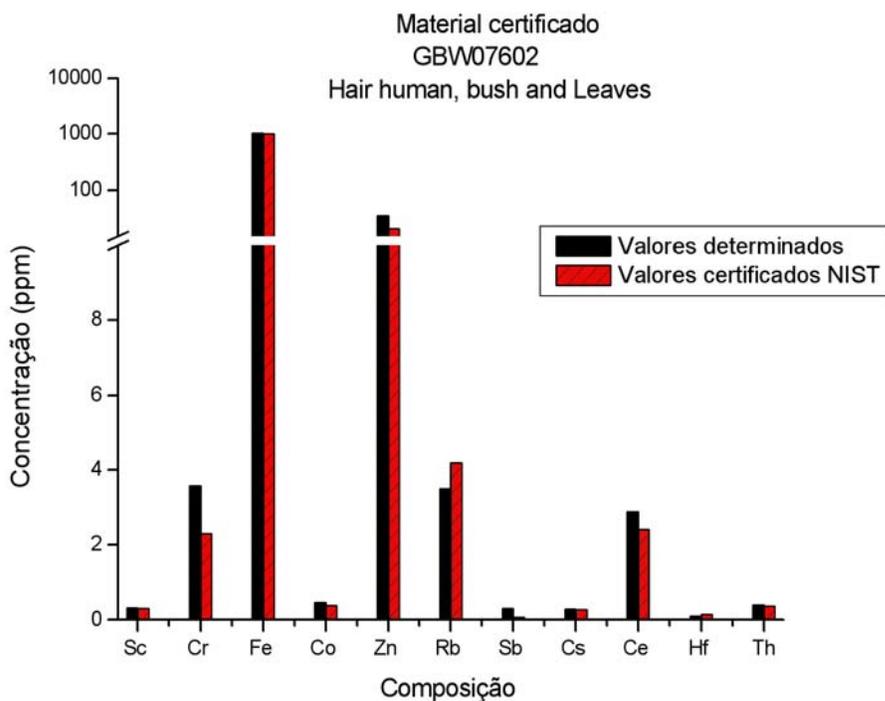


Figura 10.1 – Gráfico das concentrações determinadas comparadas ao GBW07602.

Tabela 10.2 – Análise do Material de referência certificado – GBW07603

GBW07603 Hair human, bush and Leaves		
Elementos determinados	Concentração neste trabalho	Valor certificado Nist
Sc	0,33	0,32±0,02
Cr	3,0	2,6± 0,1
Fe	1107	1070±40
Co	0,48	0,41±0,03
Zn	56	55±2
Rb	4,1	4,5±0,2
Sb	0,65	0,095±0,011
Cs	0,46	0,27±0,02
Ce	2,6	2,2± 0,1
Hf	0,11	0,15
Th	0,37	0,36± 0,03

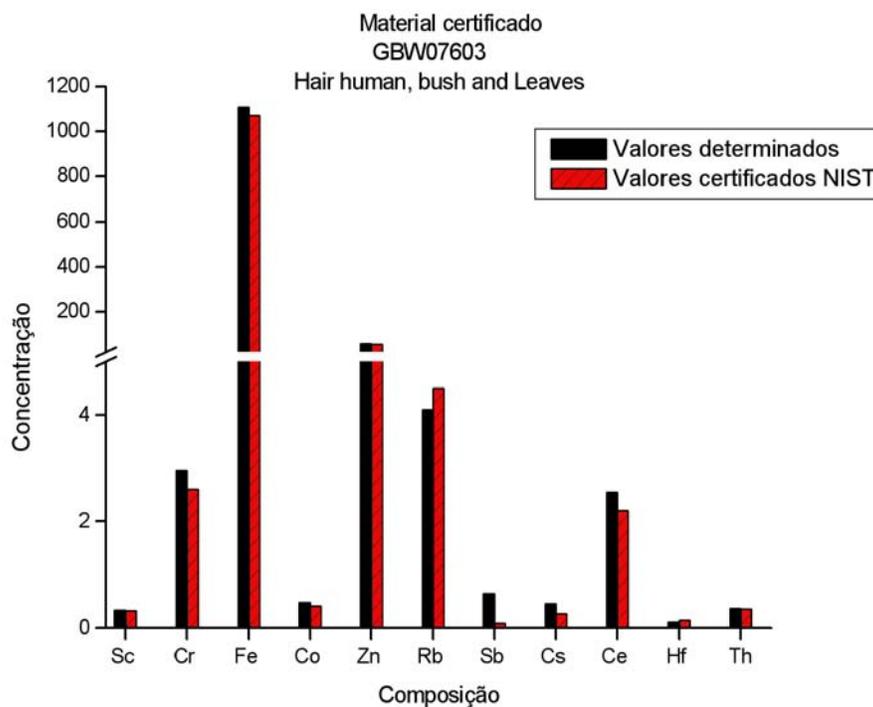


Figura 10.2 – Gráfico das concentrações determinadas comparadas ao GBW07603.

Tabela 10.3 – Análise do material de referência certificado – 1573a “tomato leaves”

1573a Tomato Leaves		
Elementos determinados	Concentração neste trabalho	Valor certificado Nist
Sc	0,1	0,1
Cr	2,94	1,99± 0,06
Fe	322	368±7
Co	0,49	0,57±0,02
Zn	35,9	30,9±0,7
Rb	17,41	14,89±0,27
Sb	0,21	0,14
Cs	0,15	0,53
Ce	2	2
Hf	0,13	0
Th	0,11	0,12

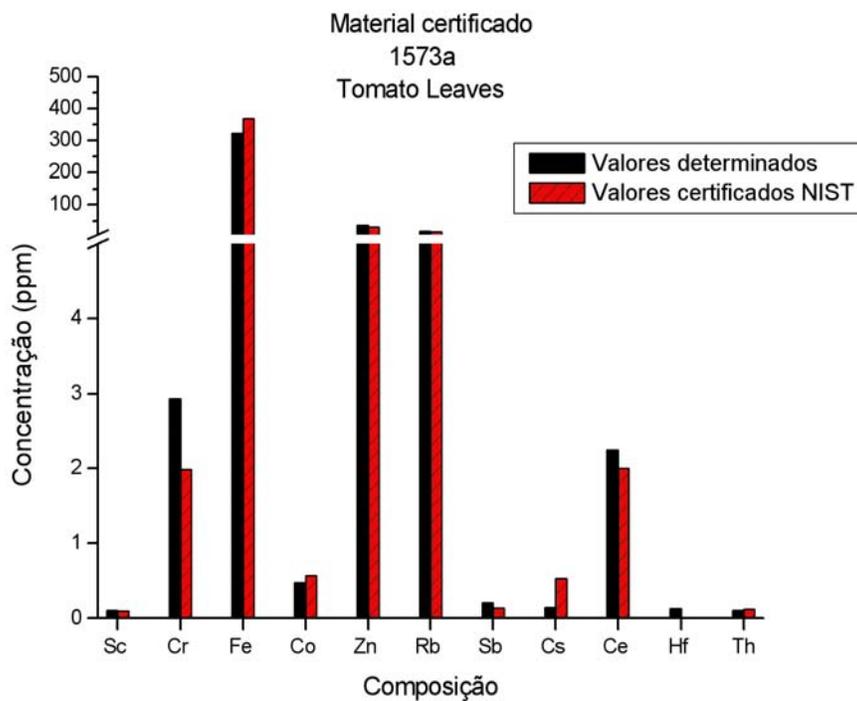


Figura 10.3 – Gráfico das concentrações determinadas comparadas ao 1573a tomato leaves.

11- Apêndice B – Tratamento estatístico dos dados e gráficos

11.1 – AANI e prospecção fitoquímica de folhas “in natura” de *Talinum patens* Amostra FTPIN

Tabela 11.1 - Resultado da análise por AANI em FTPIN (teores em µg/g)

Elementos	Metais detectados (µg/g)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	113	112	112	0,92	0,96
K	52165	51956	52061	21879	148
Sc	1,9	1,5	1,7	0,04	0,19
Cr	26,7	26,0	26,4	0,28	0,53
Fe	5306	5233	5252	1296	36
Co	3,0	2,5	2,7	0,04	0,21
Zn	89,3	88,0	89	0,77	0,88
Ga	2,9	2,6	2,8	0,03	0,17
As	0,95	0,93	0,94	0,00	0,01
Rb	27,5	26,4	26,9	0,61	0,78
Sb	0,82	0,59	0,72	0,01	0,11
Cs	1,1	1,1	1,1	0,00	0,02
La	8,0	7,3	7,6	0,09	0,30
Ce	16,2	16,0	16,1	86,4	9,3
Hf	1,3	1,1	1,2	0,01	0,09
W	12	12	11,9	0	0,1
Au	0,02	0,01	0,02	0,00	0,00
Th	1,8	1,2	1,5	0,17	0,41

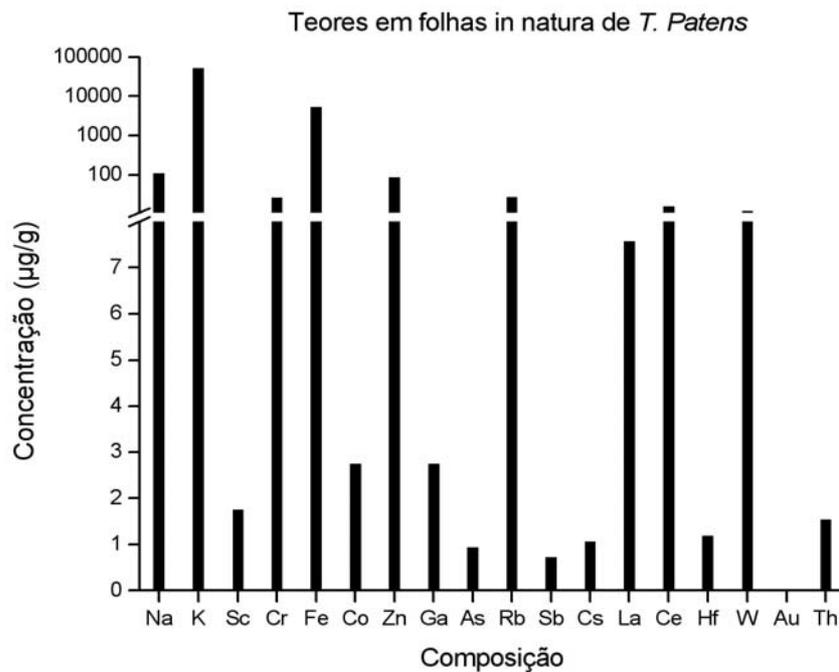


Figura 11.1 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPIN.

11.2 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato hexânico das folhas de *Talinum patens* Amostra FTPEH

Tabela 11.2 – Resultado da análise por AANI em FTPEH (teores em µg/g)

Elemento	Metais detectados (µg/g)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
K	1179	1174	1177	9,6	3,1
Sc	0,35	0,32	0,33	0,0	0,0
Cr	24,6	24,0	24,3	0,2	0,4
Fe	1325	1237	1287	1376	37
Co	0,43	0,38	0,41	0,0	0,0
Zn	29,3	29,0	29,2	0,1	0,2
Ga	0,43	0,42	0,43	0,0	0,0
Rb	95,5	95,0	95,3	0	0
Sb	0,24	0,24	0,24	0,0	0,0
La	0,35	0,26	0,30	0,0	0,0
Ce	6,3	6,1	6,2	0,0	0,2
Hf	0,39	0,29	0,32	0,0	0,0
W	11,8	11,7	11,8	0,0	0,0
Au	0,01	0,01	0,01	0,0	0,0
Th	0,56	0,55	0,56	0,0	0,0

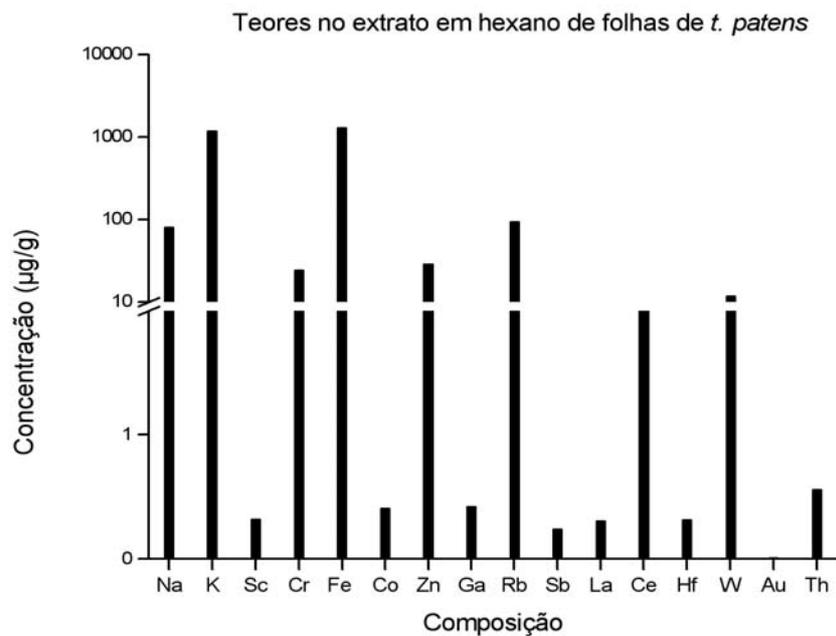


Figura 11.2 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPEH.

11.3 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato acetato-etílico das folhas de *Talinum patens* – Amostra FTPEAE

Tabela 11.3 – Resultado da análise por AANI de FTPEAE (teores em $\mu\text{g/g}$)

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	84,9	84,4	84,6	0,11	0,34
K	8214	8117	8166	4719	68,7
Cr	6,8	6,7	6,7	0,00	0,04
Co	0,23	0,22	0,22	0,00	0,01
Zn	34,5	33,8	34,1	0,30	0,54
La	0,11	0,10	0,11	0,00	0,01
W	17,2	16,2	16,7	0,48	0,69
Au	0,006	0,005	0,005	0,000	0,001

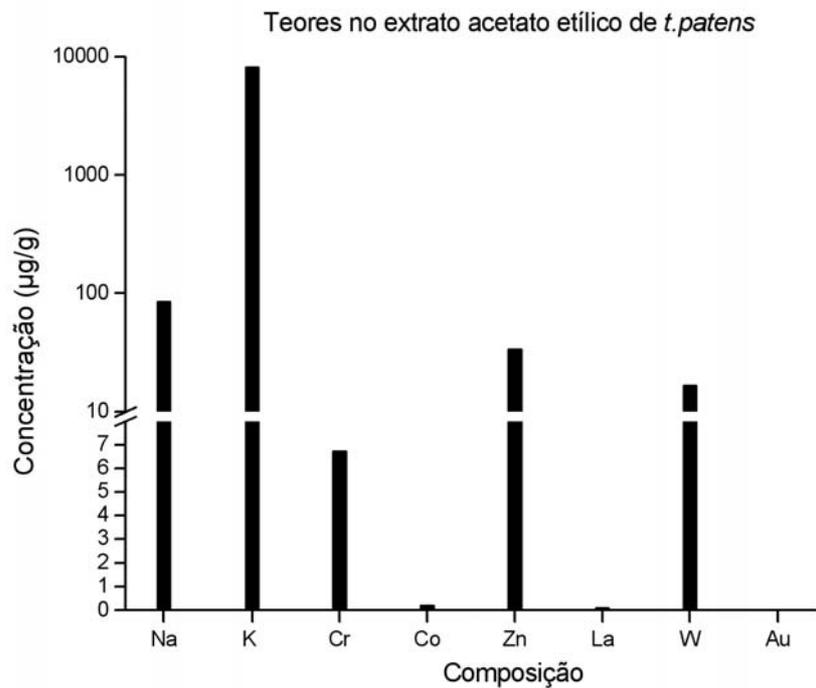


Figura 11.3 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPEAE.

11.4 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *Talinum patens* – Amostra FTPEE

Tabela 11.4 – Resultado da análise por AANI de FTPEE (teores em $\mu\text{g/g}$)

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Cr	5,0	4,7	4,8	0,05	0,23
Co	0,34	0,20	0,26	0,01	0,08
Zn	19,4	18,6	19,0	0,28	0,53
Rb	37,0	35,7	36,3	0,89	0,94

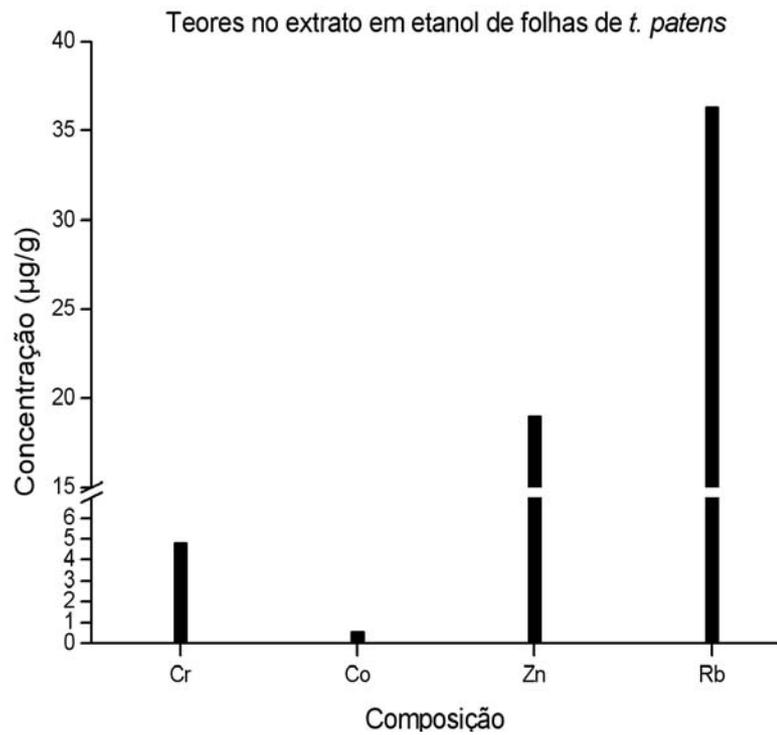


Figura 11.4 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPEE.

11.5 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato aquoso das folhas de *Talinum patens*

Tabela 11.5 – Resultado da análise por AANI de FTPEA (teores em $\mu\text{g/g}$)

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Media geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	320	310	315	50	7,1
K	1600	1581	1590	181	13,4
Fe	45,4	44,9	45,1	0,13	0,35
Zn	11,5	10,8	11,1	0,25	0,49

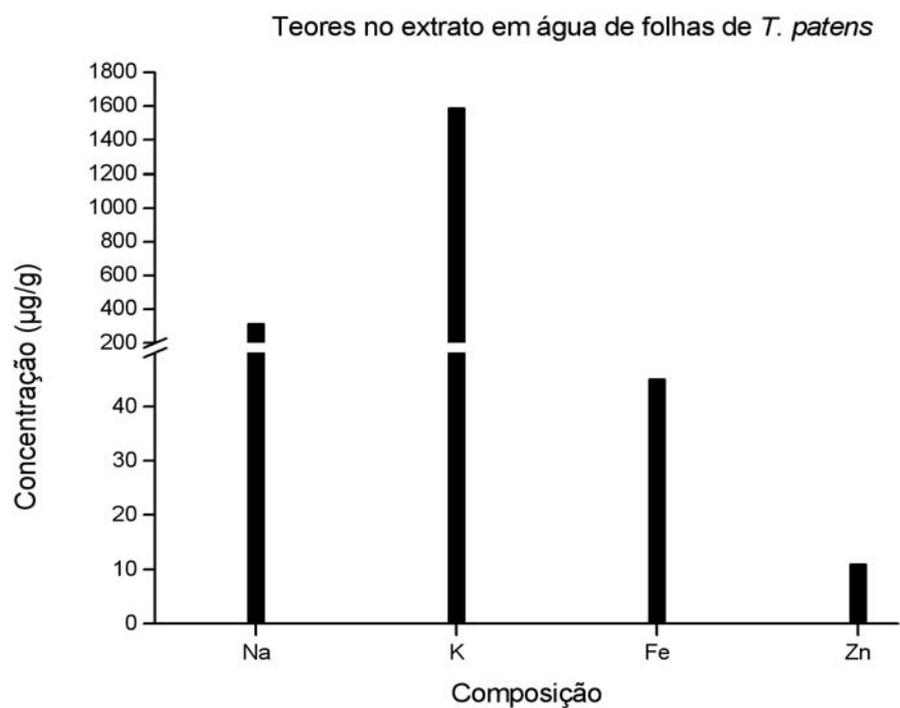


Figura 11.5 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra FTPEA.

11.6- AANI e prospecção fitoquímica do Caule “in natura” de *Talinum patens* amostra CTPIN

Tabela 11.6 – Resultado da análise por AANI de CTPIN (teores em µg /g).

Elemento	Metais detectados (µg/g)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média Geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	116	115	115,7	0,47	0,69
K	65001	64340	64670	218758	468
Sc	0,29	0,24	0,27	0,00	0,02
Cr	13,8	13,0	13,4	0,33	0,57
Fe	899	865	880	254	16
Co	0,43	0,39	0,41	0,00	0,02
Zn	28,0	27,2	27,6	0,34	0,58
As	0,38	0,35	0,36	0,00	0,02
Rb	40,6	40,2	40,4	0,06	0,25
Sb	0,19	0,18	0,18	0,00	0,00
La	3,6	0,48	2,3	1,2	1,11
Ce	3,7	3,7	3,7	0,00	0,02
W	4,8	4,8	4,8	0,00	0,02
Th	0,31	0,31	0,31	0,00	0,01

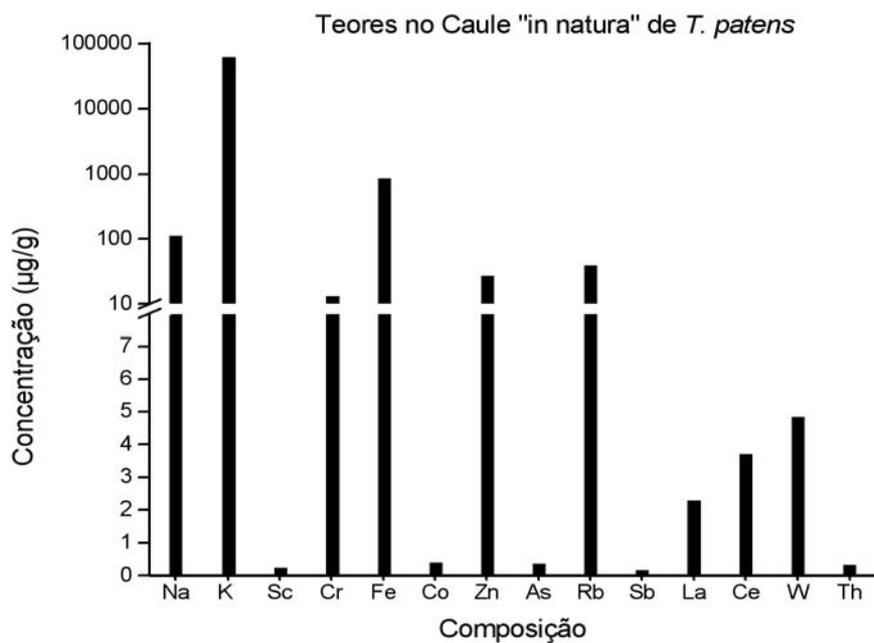


Figura 11.6 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPIN.

11.7 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato em Hexano do caule de *Talinum patens* amostra CTPEH

Tabela 11. 7 – Resultado da análise por AANI de CTPEH (teores em $\mu\text{g/g}$)

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	176	175	176	0,49	0,70
Sc	0,02	0,01	0,02	0,00	0,00
Cr	7,0	6,5	6,7	0,11	0,32
Fe	247	193	218	920	30,3
Co	0,22	0,19	0,21	0,00	0,01
Zn	36,3	34,2	35,3	2,2	1,5
Ga	0,22	0,18	0,20	0,00	0,03
As	0,90	0,11	0,21	0,15	0,39
Sb	0,19	0,17	0,18	0,00	0,02
La	0,34	0,09	0,18	0,01	0,12
W	0,36	0,07	0,18	0,02	0,14
Au	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00

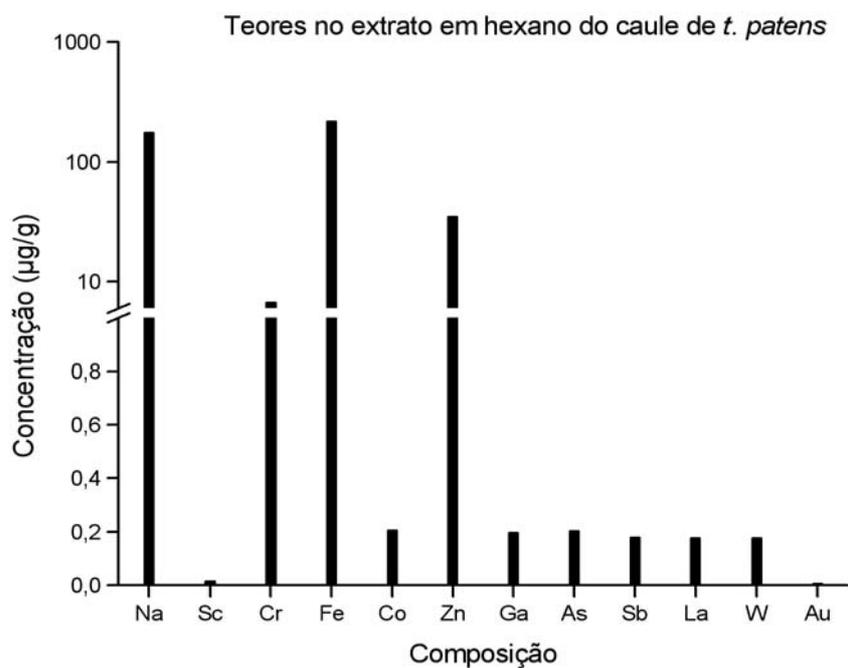


Figura 11.7 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPEH.

11.8- AANI e prospecção fitoquímica do extrato acetato-etílico do caule de *Talinum patens* Amostra CTPEAE

Tabela 11.8 – Resultado da análise por AANI em CTPEAE (teores em $\mu\text{g/g}$).

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	295	293	294	1,3	1,16
K	423	421	422	0,76	0,87
Sc	0,02	0,02	0,02	0,00	0,00
Cr	10,1	10,0	10,1	0,01	0,10
Zn	19,5	19,5	19,5	0,00	0,03
As	1,9	1,9	1,9	0,00	0,01
W	29,8	29,5	29,7	0,04	0,21
Au	0,02	0,02	0,02	0,00	0,00

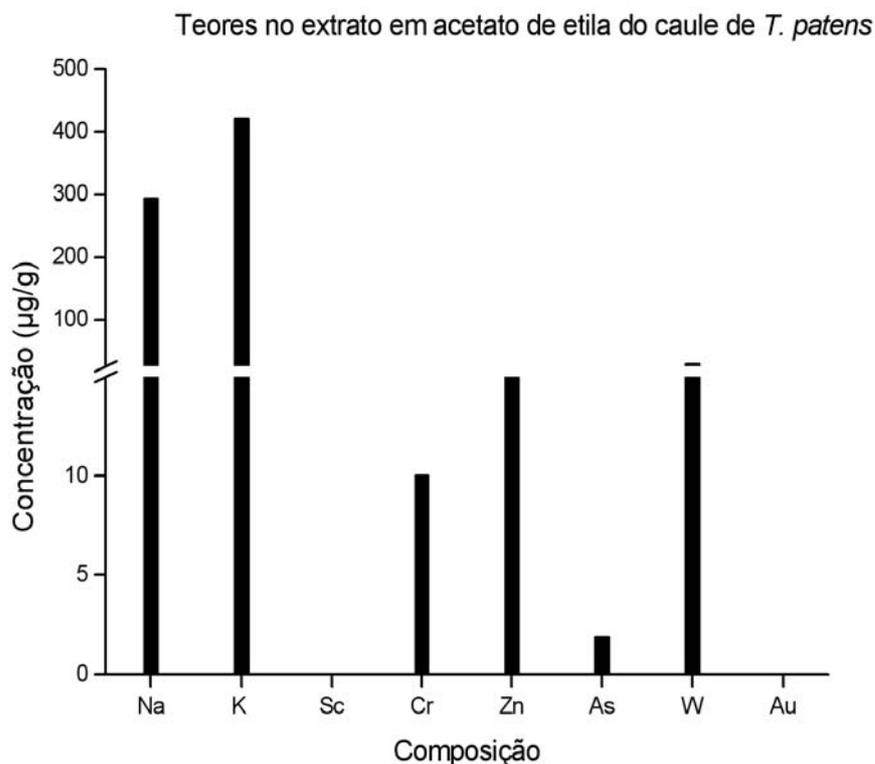


Figura 11.8 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPEAE.

11.9 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato em etanol do caule de *Talinum patens* – Amostra CTPEE

Tabela 11.9 – Resultado da análise por AANI de CTPEE (teores em $\mu\text{g/g}$)

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor Mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	578	573	576	12,1	3,5
K	72901	72524	72712	71134	267
Sc	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00
Cr	3,0	3,0	3,0	0,00	0,02
Co	0,14	0,11	0,12	0,00	0,01
Zn	21,7	20,5	21,1	0,69	0,83
Rb	334	333	333	1,5	1,2
Cs	0,61	0,57	0,59	0,00	0,03
Au	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00

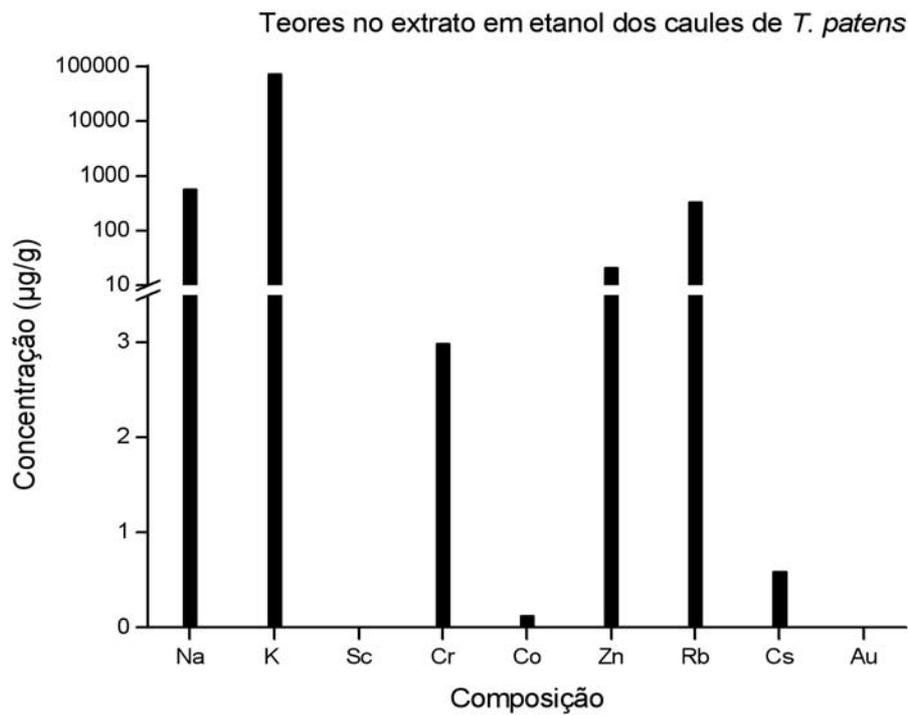


Figura 11.9 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPEE.

11.10 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato aquoso do caule de *Talinum patens*

Tabela 11.10 – Resultado da análise por AANI em CTPEA (teores em $\mu\text{g/g}$)

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Media geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	340	330	335	50	7,1
K	2958	2859	2908	4901	70
Rb	290	282	286	32	5,7
Zn	89	84	86,5	12,5	3,5

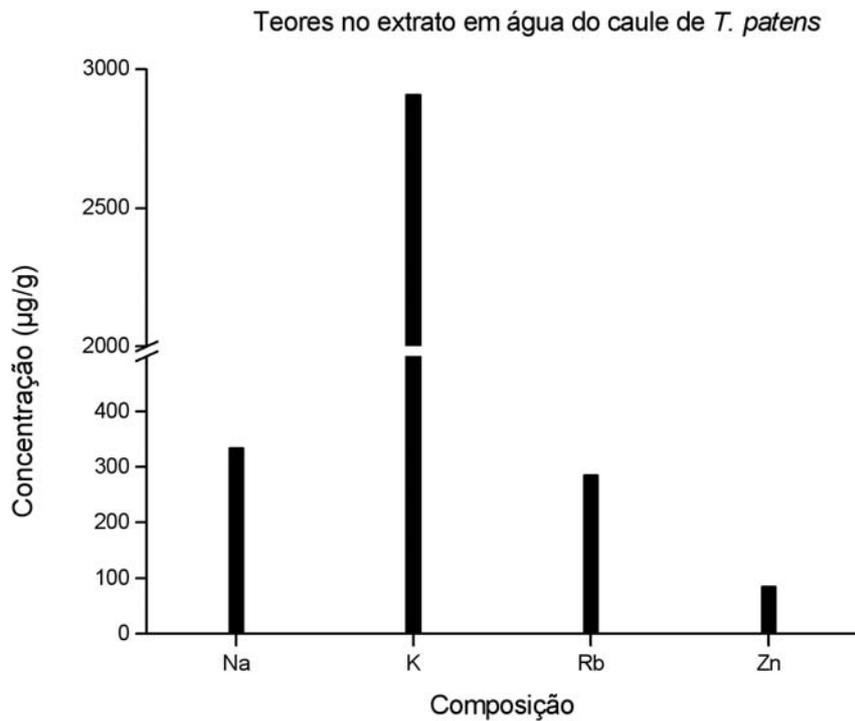


Figura 11.10 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra CTPEA.

11.11 – AANI e prospecção fitoquímica das raízes “in natura” *Talinum patens* Amostra RTPIN

Tabela 11.11 - Resultado da análise por AANI de RTPIN (teores em µg /g)

Elementos	Metais detectados (µg/g)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	255	255	255	0,08	0,29
K	27319	27299	27309	199	14,1
Sc	9,2	8,4	8,8	0,14	0,38
Cr	101	100	101	0,79	0,89
Fe	27792	27601	27696	18267	11898
Co	4,3	4,0	4,1	0,02	0,15
Zn	98,3	68,7	82,2	438	20,9
Ga	6,8	6,8	6,8	0,00	0,01
As	4,1	2,4	3,2	0,94	0,97
Rb	65,6	64,3	64,9	0,75	0,87
Sb	1,4	1,1	1,2	0,03	0,18
Cs	1,2	1,1	1,2	0,00	0,06
La	54	53,6	53,8	0,09	0,31
Ce	75,6	74,3	74,9	0,92	0,96
Ce	121	120	121	0,19	0,44
Hf	5,9	5,2	5,5	0,17	0,41
W	1,2	0,70	0,92	0,05	0,23
Au	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00
Th	8,2	8,0	8,1	0,03	0,17

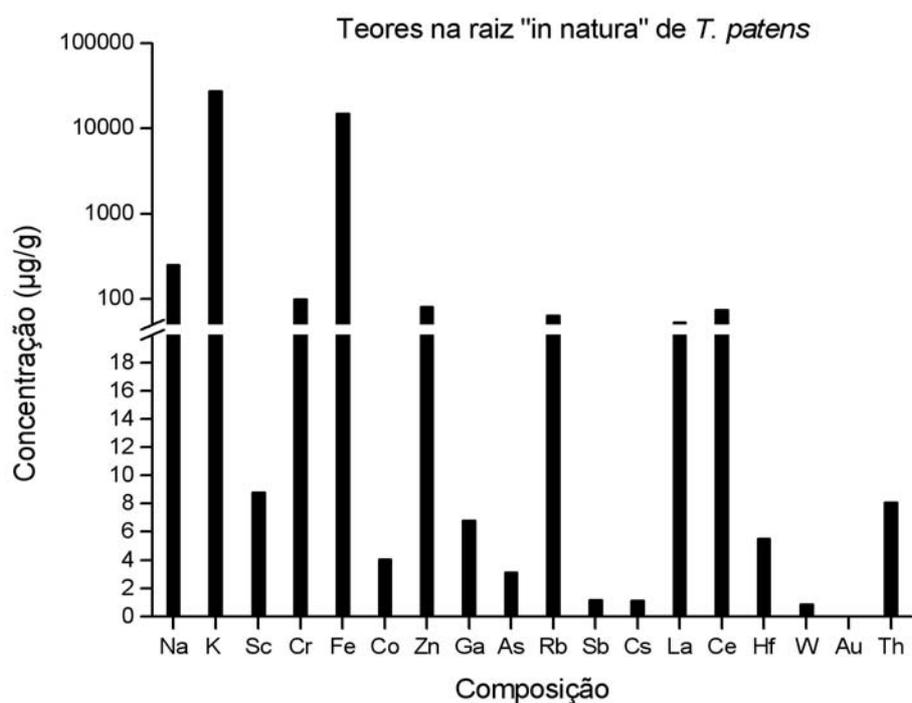


Figura 11.11 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra RTPIN.

11.12 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato em hexano da raiz de *Talinum patens* Amostra RTPEH

Tabela 11.12- Resultado da análise por AANI de RTPEH (teores em $\mu\text{g/g}$)

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	123	120	122	4,50	2,12
K	1254	1208	1231	1058	33
Sc	3,0	2,4	2,7	0,08	0,29
Cr	25,7	25,0	25,3	0,26	0,51
Fe	1237	1236	1237	0,19	0,44
Co	4,3	2,4	3,3	0,77	0,88
Zn	12,4	11,7	12,0	0,22	0,47
Ga	1,3	1,0	1,1	0,05	0,23
As	4,1	3,2	3,6	0,42	0,65
Rb	23,4	22,4	22,9	0,49	0,70
Cs	0,36	0,35	0,35	0,00	0,01
Hf	2,4	2,3	2,3	0,00	0,04
W	5,7	4,0	4,9	0,49	0,70

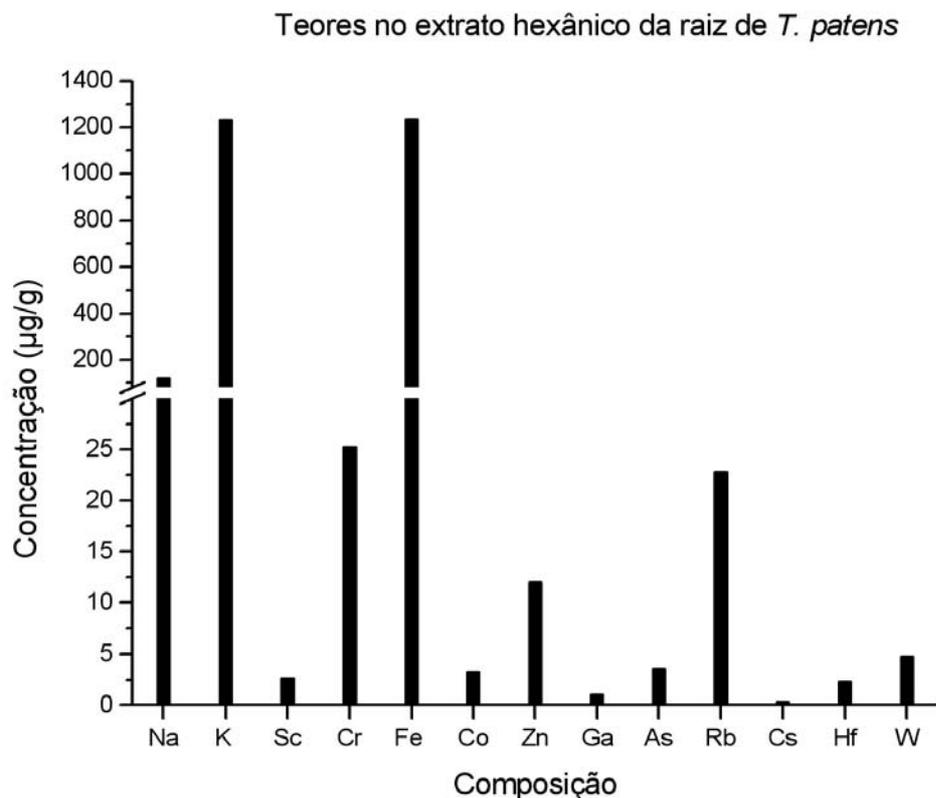


Figura 11.12 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra RTPEH.

11.13 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato acetato-etílico da raiz de *Talinum patens* – Amostra RTPEAE

Tabela 11.13 – Resultado da análise por AANI de RTPEAE (teores em $\mu\text{g/g}$)

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	14,3	12,6	13,4	1,4	1,20
K	354	322	338	537	23,2
Sc	2,9	2,7	2,8	0,01	0,12
Cr	84,4	83,3	83,8	0,61	0,78
Fe	1246	1237	1241	37,9	6,2
Co	4,3	3,0	3,6	0,92	0,96
Zn	37,0	36,0	36,5	0,49	0,70
As	1,3	1,1	1,2	0,02	0,14
Sb	1,4	1,3	1,3	0,00	0,04
La	0,32	0,29	0,30	0,00	0,02

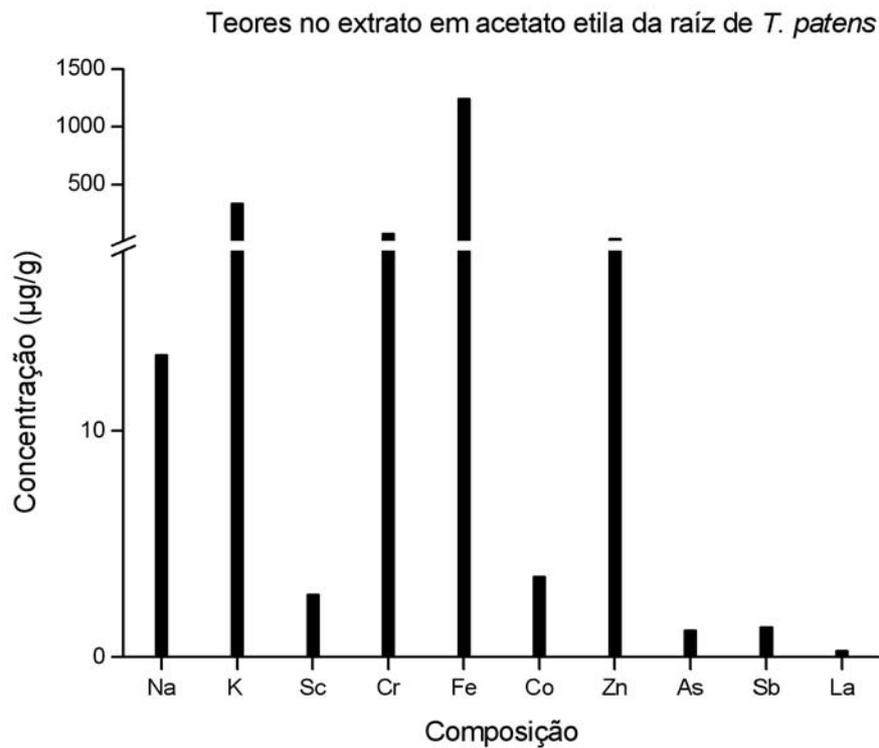
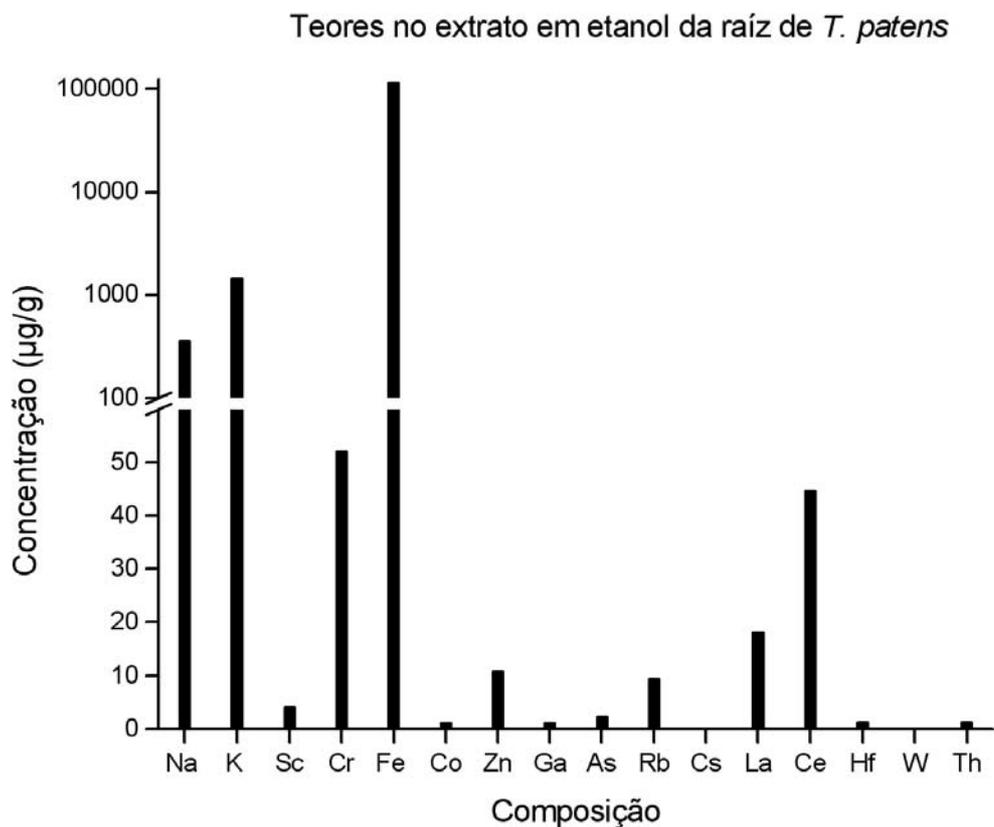


Figura 11.13 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra RTPEAE.

11.14 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato em etanólico da raiz de *Talinum patens* Amostra RTPEE

Tabela 11.14 - Resultado da análise por AANI de RTPEE (teores em µg /g).

Elementos	Metais detectados (µg/g)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Média geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	370	360	365	49	7,0
K	1498	1478	1488	199	14
Sc	4,7	4,0	4,2	0,1	0,3
Cr	52,4	52,0	52,2	0,1	0,3
Fe	208523	208491	208507	516,1	22,7
Co	1,3	1,3	1,3	0,0	0,0
Zn	11,3	10,6	10,9	0,2	0,5
Ga	1,3	1,2	1,2	0,0	0,0
As	2,6	2,2	2,4	0,1	0,3
Rb	9,8	9,2	9,5	0,2	0,4
Cs	0,26	0,22	0,2	0,0	0,0
La	24,1	14,0	18,1	28,1	5,3
Ce	45,3	44,3	44,8	0,5	0,7
Hf	1,5	1,22	1,3	0,0	0,1
W	0,40	0,18	0,24	0,0	0,1
Th	1,6	1,3	1,4	0,0	0,2



11.15 – AANI e prospecção fitoquímica do extrato em água da raiz de *Talinum patens* Amostra RTPEA

Tabela 11.15 - Resultado da análise por AANI de RTPEA (teores em $\mu\text{g/g}$)

Elementos	Metais detectados ($\mu\text{g/g}$)				
	Valor máximo	Valor mínimo	Media geométrica	Variância	Desvio padrão
Na	340	330	335	50	7,1
K	2958	2859	2908	4901	70,0
Fe	23524	23035	23278	119561	345,8
Zn	1189	1150	1169	761	27,6
As	145	125	135	200	14,1
Sn	12,4	9,6	10,9	3,9	2,0
Ce	0,12	0,09	0,1	0,0	0,0

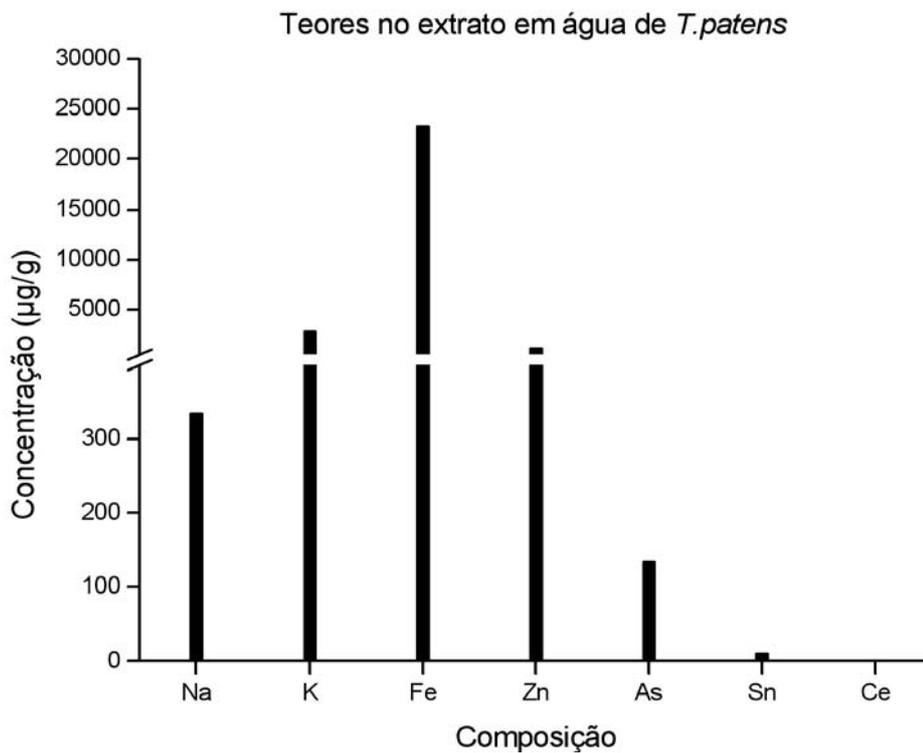


Figura 11.15 – Gráfico dos resultados de AANI para amostra RTPEA .

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)