



**AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**AVALIAÇÃO DE MICRONUTRIENTES E SUA INFLUÊNCIA NO  
METABOLISMO SECUNDÁRIO DE *Bidens pilosa* E *Salvia officinalis*,  
PLANTAS USADAS NO TRATAMENTO DE DIABETES**

**RODOLFO DANIEL MORENO REIS GONÇALVES**

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

**Orientador:**

**Prof. Dr. Paulo Sergio Cardoso da Silva**

**SÃO PAULO**

**2015**

*Aos meus pais e ao meu irmão  
que são meus modelos de  
caráter.*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Luiz, minha mãe Araci, meu irmão Paulo e à minha namorada Bruna, os quais amo muito, pelo apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Paulo Sergio Cardoso da Silva pelo convite para o trabalho de iniciação científica e pela confiança para realizar este trabalho de mestrado. Obrigado pelos ensinamentos, pela paciência e atenção durante todo esse período.

Ao Marcos Victorino por ajudar com seu conhecimento em agronomia e fornecer os materiais utilizados para cultivar as plantas.

Ao Prof. Dr. Marcelo José Pena Ferreira pelas análises por HPLC, pela disponibilidade para ensinar e pelas ideias que enriqueceram este trabalho.

Aos meus amigos do CRPq pelo tempo que passamos juntos.

Ao IPEN.

À CAPES pela bolsa concedida.

**AVALIAÇÃO DE MICRONUTRIENTES E SUA INFLUÊNCIA NO  
METABOLISMO SECUNDÁRIO DE *Bidens pilosa* E *Salvia officinalis*, PLANTAS  
USADAS NO TRATAMENTO DE DIABETES**

**Rodolfo Daniel Moreno Reis Gonçalves**

**RESUMO**

O diabetes *mellitus* é uma doença que afeta o metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas e tem como aspectos característicos a hiperglicemia e a excreção da glicose pela urina. Estima-se que o número de casos da doença aumentará muito nos próximos anos, o que a torna preocupante para o sistema público de saúde dos países mais afetados. Além do uso de medicamentos alopáticos, tratamentos complementares como o uso de plantas medicinais pode contribuir para melhorar a qualidade de vida do paciente. Entre as ervas utilizadas, tanto no Brasil quanto em outras partes do mundo, encontram-se *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis*. Os mecanismos responsáveis pela atividade antidiabética das plantas, geralmente estão associados aos seus metabólitos secundários, no entanto, a influência de micronutrientes não deve ser descartada. Estudos mostram que há uma correlação entre a concentração destes elementos com a presença e o desenvolvimento da doença. O objetivo deste trabalho foi estudar os elementos Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn em *Bidens pilosa* (picão) e *Salvia officinalis* (sálvia) cultivadas com tratamento normal (substrato comercial) e com adição dos elementos acima mencionados, e verificar a influência destes elementos na produção de metabólitos secundários que podem atuar como agentes hipoglicêmicos. A determinação e quantificação elementar foram feitas por meio da técnica de Análise por Ativação Neutrônica Instrumental, e para análise dos metabólitos secundários utilizou-se a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. O resultados indicaram que *B. pilosa* e *S. officinalis* podem ser usadas como fontes de Cr, Fe Mg, Mn, V e Zn. Foi observado que a *B. pilosa* absorveu maior quantidade de Fe no grupo tratamento, e que a *S. officinalis* foi capaz de acumular Zn nas folhas independente de ter ou não sido tratada. Quanto aos compostos do metabolismo secundário, os resultados indicaram que sua produção pelas plantas aparentemente não foi alterada pela adição da solução dos nutrientes.

**MICRONUTRIENTS EVALUATION AND ITS INFLUENCE ON SECONDARY METABOLISM OF *Bidens pilosa* AND *Salvia officinalis*, PLANTS APPLIED IN DIABETES TREATMENT**

**Rodolfo Daniel Moreno Reis Gonçalves**

**ABSTRACT**

Diabetes *mellitus* is a disease that affects the carbohydrates, lipids and proteins metabolism characterized by hyperglycemia and glucose excretion by urine. It is estimated that the number of cases of this disease will increase in the coming years, worrying the public health system of the most affected countries. Besides the use of allopathic medicine, complementary treatments such as the use of medicinal plants can contribute to improving the patients quality of life. Among the herbs used, both in Brazil and in other countries, are *Bidens pilosa* and *Salvia officinalis*. The mechanisms responsible for antidiabetic activity of the plants, are usually associated with secondary metabolites, however, the influence of micronutrient content should not be discarded. Studies have shown that there is a correlation between the concentration of these elements and the presence and development of the disease. The objective of this work was to study the elements Cr, Fe, Mg, Mn, V and Zn concentration in *Bidens pilosa* (beggarticks) and *Salvia officinalis* (sage) cultivated with normal treatment (commercial substrate) and, with the addition of these elements, to verify their influence in the production of secondary metabolites that can act as hypoglycemic agents. The elemental determination and quantification were performed by means of Instrumental Neutron Activation Analysis technique. For the secondary metabolites analysis Liquid Chromatography High Performance technique was used. The results indicated that *B. pilosa* and *S. officinalis* may be used as sources of Cr, Fe, Mg, Mn, V and Zn. It was observed that *B. pilosa* absorbed a larger amount of Fe in the treatment group, and *S. officinalis* was able to accumulate Zn its in leaves whether treated or not. Considering the secondary metabolism compounds, the results indicated that its production by plants was apparently not altered by the addition of the nutrient solution.

## SUMÁRIO

	Páginas
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1 Diabetes <i>mellitus</i> .....</b>	<b>16</b>
<b>1.2 Plantas utilizadas para o tratamento do diabetes .....</b>	<b>19</b>
<b>1.3 Micronutrientes x diabetes <i>mellitus</i> .....</b>	<b>21</b>
<b>1.4 <i>Salvia officinalis</i> L. ....</b>	<b>22</b>
1.4.1 Descrição botânica .....	23
1.4.2 Uso popular .....	24
1.4.3 Composição química .....	25
1.4.4 Ações farmacológicas .....	26
1.4.5 Constituintes antidiabéticos .....	26
<b>1.5 <i>Bidens pilosa</i> L. ....</b>	<b>27</b>
1.5.1 Descrição botânica .....	27
1.5.2 Uso popular .....	28
1.5.3 Composição química .....	29
1.5.4 Ações farmacológicas .....	29
1.5.5 Constituintes antidiabéticos .....	30
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>31</b>
2.1 Objetivo específico.....	31
2.2 Objetivos gerais .....	31
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>32</b>
3.1 Cultivo das plantas .....	32
3.2 Preparo dos extratos .....	34
3.3 pH do solo .....	35
3.4 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental .....	36
3.4.1 Princípios do método.....	36
3.4.2 Preparação e irradiação das amostras .....	37
3.4.3 Verificação da metodologia.....	40
3.4.4 Limite de detecção.....	41
3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).....	42
3.5.1 Preparo das amostras.....	44
3.5.2 Análise dos extratos obtidos de <i>Bidens pilosa</i> e <i>Salvia officinalis</i> .....	44

3.5.3 Parâmetros cromatográficos utilizados nas análises.....	45
3.6 Análise estatística .....	46
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>47</b>
4.1 Cultivo das plantas .....	47
4.2 Análise de pH do solo .....	50
4.3 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental .....	51
4.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência .....	59
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>66</b>
5.1 Cultivo das plantas .....	66
5.2 pH do solo .....	66
5.3 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental .....	67
5.3.1 Fator de transferência.....	86
5.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência .....	93
5.5 Análise de correlação .....	98
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>110</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>135</b>

## LISTA DE TABELAS

	<b>Páginas</b>
TABELA 3.1: Elementos determinados por ativação neutrônica, radioisótopos formados na ativação, energias dos raios gama utilizadas na espectrometria gama e suas respectivas meias-vidas.....	39
TABELA 3.2: Média das concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$ , para o material de referência SRM 1646a, valor certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto onde indicado %, desvio padrão relativo (DPR) e erro relativo (ER) em %. N = 5.....	40
TABELA 3.3: Média das concentrações obtidas, em $\mu\text{g g}^{-1}$ , para o material de referência STM, valor certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto onde indicado %, desvio padrão relativo (DPR) e erro relativo (ER) em %. N = 5.....	41
TABELA 3.4: Valores de limites de detecção (LD) da técnica de INAA ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) obtidos em matrizes de solo, planta e extratos.....	42
TABELA 3.5: Gradiente de solventes utilizados na análise cromatográfica por HPLC.....	46
TABELA 4.1: Características físicas das amostras de <i>Bidens pilosa</i> do grupo controle.....	48
TABELA 4.2: Características físicas das amostras de <i>Bidens pilosa</i> do grupo tratamento.....	49
TABELA 4.3: Características morfológicas das amostras de <i>Salvia officinalis</i> do grupo controle.....	49
TABELA 4.4: Características morfológicas das amostras de <i>Salvia officinalis</i> do grupo tratamento.....	50
TABELA 4.5: Medidas de pH do solo.....	51
TABELA 4.6: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de solo de <i>B. pilosa</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por %.....	52
TABELA 4.7: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de plantas de <i>B. pilosa</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	53
TABELA 4.8: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	54



TABELA 4.9:	Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	55
TABELA 4.10:	Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de solo de <i>S. officinalis</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por % .....	56
TABELA 4.11:	Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de plantas de <i>S. officinalis</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	57
TABELA 4.12:	Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de extrato aquoso de <i>S. officinalis</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	58
TABELA 4.13:	Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de extrato alcoólico de <i>S. officinalis</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .	59
TABELA 4.14:	Tempos de retenção dos padrões comerciais analisados por HPLC e comprimento de onda de detecção.....	60
TABELA 4.15:	Resultados obtidos para a área do pico de absorvância, em mAU (unidade de miliabsorvância), do ácido clorogênico nos extratos aquosos de <i>B. pilosa</i> .....	62
TABELA 4.16:	Resultados obtidos para a área do pico de absorvância, em mAU (unidade de miliabsorvância), do ácido clorogênico nos extratos alcoólicos de <i>B. pilosa</i> .....	63
TABELA 4.17:	Resultados obtidos para as áreas dos picos de absorvância, em mAU (unidade de miliabsorvância), do ácido rosmarínico e da Vitexina nos extratos aquosos de <i>S. officinalis</i> .....	64
TABELA 4.18:	Resultados obtidos para as áreas dos picos de absorvância, em mAU (unidade de miliabsorvância), do ácido rosmarínico e da vitexina nos extratos alcoólicos de <i>S. officinalis</i> .....	65
TABELA 5.1:	Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos determinados nas amostras de solo de <i>B. pilosa</i> .....	102
TABELA 5.2:	Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos determinados nas amostras <i>B. pilosa</i> .....	103
TABELA 5.3:	Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos e do ácido clorogênico (AC) determinados nas amostras de extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> .....	104

TABELA 5.4:	Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos e do ácido clorogênico (AC) determinados nas amostras de extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> .....	105
TABELA 5.5:	Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos determinados nas amostras de solo de <i>S. officinalis</i> .....	106
TABELA 5.6:	Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos determinados nas amostras de <i>S. officinalis</i> .....	107
TABELA 5.7:	Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos, do ácido rosmarínico (AR) e da vitexina (Vit.) determinados nas amostras de extrato aquoso de <i>S. officinalis</i> .....	108
TABELA 5.8	Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos, do ácido rosmarínico (AR) e da vitexina (Vit.) determinados nas amostras de extrato alcoólico de <i>S. officinalis</i> .....	109
TABELA A.1:	Concentrações e incertezas dos elementos determinados no solo de <i>B. pilosa</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por %.....	113
TABELA A.2:	Concentrações e incertezas de elementos determinados em plantas de <i>B. pilosa</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por %.....	116
TABELA A.3:	Concentrações e incertezas de elementos determinados no extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	119
TABELA A.4:	Concentrações e incertezas de elementos determinados nos extratos alcoólicos de <i>B. pilosa</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	121
TABELA B.1:	Concentrações e incertezas de elementos determinados no solo de <i>S. officinalis</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por %.....	123
TABELA B.2:	Concentrações e incertezas dos elementos determinados nas plantas da espécie <i>S. officinalis</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	126
TABELA B.3:	Concentrações e incertezas dos elementos determinados nos extratos aquoso de <i>S. officinalis</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	129

TABELA B.4:	Concentrações e incertezas dos elementos determinados nos extratos alcoólicos de <i>S. officinalis</i> dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{g g}^{-1}$ .....	131
-------------	---	-----

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Páginas</b>
FIGURA 1.1: <i>Salvia officinalis</i> L.....	24
FIGURA 1.2: <i>Bidens pilosa</i> L.....	28
FIGURA 3.1: Sementeira preenchida com substrato.....	32
FIGURA 3.2: Montagem dos canteiros.....	32
FIGURA 3.3: Extratos alcoólicos em maceração.....	34
FIGURA 3.4: Extratos aquosos em infusão.....	35
FIGURA 3.5: Metabólitos secundários determinados nos extratos de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	45
FIGURA 4.1: Mudanças de <i>Bidens pilosa</i> L.....	47
FIGURA 4.2: Mudanças de <i>Salvia officinalis</i> L.....	47
FIGURA 4.3: Cromatogramas identificando o ácido clorogênico no extrato de <i>B. pilosa</i> (linha vermelha) e no padrão utilizado como referência (linha azul).....	60
FIGURA 4.4: Cromatogramas identificando a vitexina e o ácido rosmarínico. Os cromatogramas das linhas verde, azul e vermelha se referem, respectivamente, ao extrato de <i>S. officinalis</i> , padrão de vitexina e padrão de ác. rosmarínico.....	61
FIGURA 5.1: Dispersão das concentrações de Cr nas amostras de solo de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	69
FIGURA 5.2: Dispersão das concentrações de Fe nas amostras de solo de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	69
FIGURA 5.3: Dispersão das concentrações de Mg nas amostras de solo de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	70
FIGURA 5.4: Dispersão das concentrações de Mn nas amostras de solo de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	71
FIGURA 5.5: Dispersão das concentrações de V nas amostras de solo de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	71
FIGURA 5.6: Dispersão das concentrações de Zn nas amostras de solo de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	72
FIGURA 5.7: Dispersão das concentrações de Cr nas amostras de planta de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	73

FIGURA 5.8:	Dispersão das concentrações de Fe nas amostras de planta de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	73
FIGURA 5.9:	Dispersão das concentrações de Mg nas amostras de planta de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	74
FIGURA 5.10:	Dispersão das concentrações de Mn nas amostras de planta de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	75
FIGURA 5.11:	Dispersão das concentrações de V nas amostras de planta de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	75
FIGURA 5.12:	Dispersão das concentrações de Zn nas amostras de planta de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	76
FIGURA 5.13:	Dispersão das concentrações de Cr nas amostras de extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	77
FIGURA 5.14:	Dispersão das concentrações de Fe nas amostras de extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	77
FIGURA 5.15:	Dispersão das concentrações de Mg nas amostras de extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	78
FIGURA 5.16:	Dispersão das concentrações de Mn nas amostras de extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	79
FIGURA 5.17:	Dispersão das concentrações de Zn nas amostras de extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	79
FIGURA 5.18:	Dispersão das concentrações de Cr nas amostras de extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	80
FIGURA 5.19:	Dispersão das concentrações de Fe nas amostras de extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	81
FIGURA 5.20:	Dispersão das concentrações de Mg nas amostras de extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	81
FIGURA 5.21:	Dispersão das concentrações de Mn nas amostras de extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	82
FIGURA 5.22:	Dispersão das concentrações de Zn nas amostras de extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	83
FIGURA 5.23:	Média dos valores de FT para Mg, Mn e Zn nos grupos controle e tratamento de <i>B. pilosa</i> .....	86
FIGURA 5.24:	Média dos valores de FT para Cr, Fe e V nos grupos controle e tratamento de <i>B. pilosa</i> .....	87

FIGURA 5.25:	Média dos valores de FT para Mg, Mn e Zn nos grupos controle e tratamento do extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> .....	87
FIGURA 5.26:	Média dos valores de FT para Fe nos grupos controle e tratamento do extrato aquoso de <i>B. pilosa</i> .....	88
FIGURA 5.27:	Média dos valores de FT para Mg e Zn nos grupos controle e tratamento do extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> .....	88
FIGURA 5.28:	Média dos valores de FT para Cr e Mn nos grupos controle e tratamento do extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> .....	89
FIGURA 5.29:	Média dos valores de FT para Fe nos grupos controle e tratamento do extrato alcoólico de <i>B. pilosa</i> .....	89
FIGURA 5.30:	Média dos valores de FT para Zn nos grupos controle e tratamento de <i>S. officinalis</i> .....	90
FIGURA 5.31:	Média dos valores de FT para Mg e Mn nos grupos controle e tratamento de <i>S. officinalis</i> .....	90
FIGURA 5.32:	Média dos valores de FT para Cr e Fe nos grupos controle e tratamento de <i>S. officinalis</i> .....	90
FIGURA 5.33:	Média dos valores de FT para Cr, Mg, Mn e Zn nos grupos controle e tratamento do extrato aquoso de <i>S. officinalis</i> .....	91
FIGURA 5.34:	Média dos valores de FT para Mg, Mn e Zn nos grupos controle e tratamento do extrato alcoólico de <i>S. officinalis</i> .....	92
FIGURA 5.35:	Dispersão dos valores dos picos de absorbância do ácido clorogênico encontrados nos extratos alcoólicos e aquosos de <i>B. pilosa</i> .....	93
FIGURA 5.36:	Cromatograma do extrato aquoso de <i>S. officinalis</i> com alto rendimento de ácido rosmarínico.....	95
FIGURA 5.37:	Cromatograma do extrato aquoso de <i>S. officinalis</i> com baixo rendimento de ácido rosmarínico.....	95
FIGURA 5.38:	Valores médios das áreas dos picos de absorbância do ácido rosmarínico em amostras dos extratos aquosos (EAqS) e alcoólicos (EAS) de <i>S. officinalis</i> .....	96
FIGURA 5.39:	Dispersão dos valores dos picos de absorbância da vitexina encontrados nos extratos alcoólicos e aquosos de <i>S. officinalis</i> ....	97
FIGURA C.1:	Dispersão dos valores de massa da planta fresca (g) para amostras de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	133

FIGURA C.2:	Dispersão dos valores de altura da planta (cm) para amostras de <i>B. pilosa</i> .....	133
FIGURA C.3:	Dispersão dos valores de largura das folhas (cm) para amostras de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	134
FIGURA C.4:	Dispersão dos valores de comprimento das folhas (g) para amostras de <i>B. pilosa</i> e <i>S. officinalis</i> .....	134

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Diabetes *mellitus*

O diabetes *mellitus* (DM) está entre as dez principais causas de morte no mundo. Apesar dos progressos em seu controle clínico, ainda não foi possível controlar de fato suas consequências letais (World Health Organization, 2014; Negri, 2005). A Organização Mundial de Saúde estima que o número de casos de diabetes no mundo elevar-se-á, de 171 milhões em 2000 para 366 milhões em 2030. A estimativa para o Brasil, no mesmo período, é a ocorrência de 4,5 milhões de casos que aumentarão para 11,3 milhões, tornando-se o oitavo país no mundo com maior número de pessoas com diabetes (Freitas e Garcia, 2012).

O diabetes *mellitus* é um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresenta em comum a hiperglicemia que é resultante de defeitos na ação ou na secreção da insulina ou em ambos. Dependendo da etiologia da doença o diabetes *mellitus* pode ser classificado em DM tipo I, DM tipo II, outros tipos específicos de DM e diabetes *mellitus* gestacional (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015).

O diabetes *mellitus* tipo I ocorre em qualquer idade, mas na maioria dos casos é detectado em pessoas com menos de 30 anos, com um pico de incidência entre 10-12 anos no sexo feminino e 12-14 anos no masculino (Gomes, 2011), representa 5%-10% dos casos da doença e resulta da destruição das células beta pancreáticas com consequente deficiência de insulina. Na maioria das vezes a destruição das células beta se dá por processo autoimune, porém existem casos em que não há evidência de autoimunidade, referindo-se à forma idiopática do DM tipo I. Quando a hiperglicemia é detectada, 90% dos indivíduos apresentam os marcadores de autoimunidade, que são os autoanticorpos: anti-insulina, antidescarboxilase do ácido glutâmico (GAD 65) e antitirosina-fosfatases (IA2 e IA2B). Além do componente autoimune, o DM tipo I apresenta forte associação com determinados genes do sistema antígeno leucocitário humano (HLA), alelos esses que podem ser predisponentes ou protetores para o desenvolvimento da doença (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015).

O diabetes *mellitus* tipo II representa 90%-95% dos casos de diabetes e caracteriza-se por defeitos na ação e na secreção da insulina. A maioria dos portadores



desse tipo da doença apresenta sobrepeso ou obesidade e geralmente o diagnóstico é feito após os 40 anos (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015), entretanto, como consequência do aumento da obesidade entre os jovens, o DM tipo II está se tornando cada vez mais frequente entre as crianças e os adultos jovens (Moura, 2011).

O DM gestacional é qualquer intolerância à glicose, de magnitude variável, com início ou diagnóstico durante a gestação. Sua fisiopatologia é explicada pela elevação de hormônios contra-reguladores da insulina, pelo estresse fisiológico imposto pela gravidez e a fatores predeterminantes (genéticos ou ambientais) (Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, 2006). Acomete aproximadamente 7% de todas as gestações, resultando mais de 200.000 casos anualmente (American Diabetes Association, 2011). Pacientes com DM gestacional devem ser reavaliadas quatro a seis semanas após o parto e reclassificadas como apresentando DM, glicemia de jejum alterada, tolerância à glicose diminuída ou normoglicemia. Na maioria dos casos há reversão para a tolerância normal após a gravidez, porém existe um risco de 17%-63% de desenvolvimento de DM tipo II dentro de 5-16 anos após o parto (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015).

Outros tipos específicos de diabetes *mellitus* são mais raros e podem resultar de defeitos genéticos da função das células beta, defeitos genéticos da ação da insulina, doenças do pâncreas exócrino, endocrinopatias, efeito colateral de medicamentos, infecções e outras síndromes genéticas associadas ao DM (Brasil, 2013).

As complicações do DM podem ser classificadas em agudas (hipoglicemia, cetoacidose e coma hiperosmolar) e crônicas (macrovasculares e microvasculares) (Brasil, 2013).

As complicações agudas do DM incluem a descompensação hiperglicêmica aguda, com glicemia casual superior a 250 mg/dL, que pode evoluir para complicações mais graves como cetoacidose diabética e síndrome hiperosmolar hiperglicêmica não cetótica, e a hipoglicemia, com glicemia casual inferior a 60 mg/dL que leva a sintomas neuroglicopênicos (fome, tontura, fraqueza, dor de cabeça, confusão, coma, convulsão) e a manifestações de liberação do sistema simpático (sudorese, taquicardia, apreensão, tremor) (Brasil, 2013).

A patogenia das complicações crônicas ainda não está totalmente esclarecida, mas os fatores que podem ser determinantes para o curso clínico da micro e da macroangiopatia são a hiperglicemia, o tempo de duração do diabetes, a hipertensão arterial, o fumo, o colesterol elevado (Brasil, 2013) e alterações funcionais e estruturais dos pequenos vasos sanguíneos (Almeida, 2008).

Complicações crônicas macrovasculares não são específicas do diabetes, mas são mais graves nos indivíduos acometidos pela doença, sendo a principal causa de morbidade e mortalidade associada ao diabetes (Brasil, 2013).

As complicações crônicas microvasculares, como a retinopatia, nefropatia e neuropatia diabética são específicas da doença.

A retinopatia diabética é caracterizada por alterações vasculares com lesões na retina e conseqüentemente perda da acuidade visual. É considerada uma das mais frequentes complicações crônicas do diabetes, junto com a catarata. Seu risco aumenta com o mau controle glicêmico e o tempo da doença (Almeida, 2008). A chance de um indivíduo desenvolver cegueira em decorrência de diabetes é 30 vezes maior comparado a um indivíduo sem a doença (Brasil, 2013). A retinopatia diabética acomete 90% dos diabéticos tipo I e 60% dos diabéticos tipo II, após 20 anos de evolução da doença (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015).

A nefropatia diabética é uma situação em que há lenta redução da função renal, porém de forma progressiva, afeta até 40% dos pacientes, sendo a principal causa de doença renal terminal e ingressos em programas de hemodiálise. Essa complicação é caracterizada por alterações nos vasos renais, levando a perda de proteína na urina. O estágio inicial que apresenta pequenas quantidades de albumina na urina (30-300 mg/dia), denomina-se microalbuminúria ou nefropatia incipiente. O estágio mais avançado é chamado macroalbuminúria ou proteinúria e é caracterizado pela excreção de albumina em níveis acima de 300 mg/dia (Almeida, 2008; Lara, 2006; Mendes e Bregman, 2010; Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015).

A neuropatia diabética é uma complicação neurológica que afeta todo o sistema nervoso periférico nos seus componentes sensitivo, motor e autonômico (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015). Como consequência da neuropatia periférica tem-se o “pé diabético”, caracterizado pela perda gradual de sensibilidade ao nível do pé. Os mecanismos de defesa corporal são, portanto, progressivamente removidos, implicando complicações posteriores nomeadamente a ulceração que muitas vezes resulta na amputação do membro inferior. Os pacientes com diabetes tipo I e II são afetados de forma similar e com prevalência de até 50% dessa população (Sanches, 2008).

Para evitar serem acometidos pelas muitas complicações às quais estão sujeitos os pacientes diabéticos, estes indivíduos devem tomar medidas que proporcionarão melhor qualidade de vida. A reeducação alimentar e a prática de atividades físicas aliadas ao tratamento medicamentoso são fundamentais para a manutenção da glicemia em níveis

considerados normais. O uso de insulina é obrigatório no caso do diabetes tipo I, enquanto que no caso do tipo II, quando necessários são utilizados hipoglicemiantes orais ou insulina, e para o diabetes gestacional, havendo necessidade, é usada a insulina (Lima, 2004).

Alguns hipoglicemiantes orais são responsáveis por provocar efeitos indesejáveis ao paciente diabético. Por exemplo, há relatos de que a metformina, droga empregada para o tratamento de diabetes tipo II, pode estar associada com a má absorção de vitamina B12 e com a produção de ácido lático. Algumas drogas como sulfoniluréias e as tiazolidinedionas, também usadas para tratar diabetes tipo II foram associadas à hipoglicemia e aumento no peso corporal, juntamente com o aumento do risco de desenvolver doença cardiovascular (Araújo et al., 2000). Além disso, os medicamentos empregados para manter os níveis glicêmicos normais precisam ser administrados de forma frequente e cuidadosa, o que acaba tornando-os mais caros e inviáveis para a população de baixa renda. A adoção de práticas menos dispendiosas, como o uso de ervas medicinais, pode complementar o tratamento de doenças de alta prevalência, como o diabetes (Karim et al., 2011).

## **1.2 Plantas utilizadas para o tratamento do diabetes**

Plantas medicinais têm sido usadas em todo o mundo para tratamento de diabetes, sendo que mais de 1200 espécies são utilizadas com esta finalidade pela medicina popular. Os vegetais descritos podem exercer diferentes mecanismos de ação nomeadamente estimulação à regeneração das células- $\beta$ , manutenção dos níveis de glicose no sangue e de restabelecimento dos níveis de glicogênio no fígado. A maioria destas plantas contém compostos fenólicos, glicosídeos, alcaloides, terpenos, flavonoides, entre outros, que estão intimamente relacionados com os diversos mecanismos que originam ação antidiabética (Patel et al., 2012).

Entre os estudos realizados com as plantas que têm ação antidiabética alguns são citados a seguir. Erdemoglu et al. (2009) estudaram a bardana (*Arctium minus* (Hill) Bernh) e concluíram que ela é uma fonte natural rica em antioxidantes e uma candidata em potencial para o desenvolvimento de novas drogas. El-Sayed (2011) concluiu que a semente de beldroega (*Portulaca oleracea* L.) é efetiva como tratamento complementar do diabetes do tipo II devido a ser um forte agente hipoglicêmico, reduzir a resistência a insulina, possuir ação hiperlipidêmica, diminuir o colesterol, possuir função protetora do fígado e ajudar na redução do peso. Lans (2006) descreveu treze plantas medicinais

utilizadas em Trinidad e Tobago para tratamento de diabetes, entre elas urucum (*Bixa orellana* L.), melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus urinaria* L.) e picão (*Bidens pilosa* L.) que são plantas também comuns no Brasil. Gbolade (2009) descreveu cinquenta e nove plantas medicinais utilizadas na Nigéria e concluiu que a *Vernonia amygdalina* Delile é a planta mais utilizada como erva medicinal contra diabetes e que as plantas *Carica papaya* L., *Citrus aurantiifolia* (Christm.) Swingle, *Bidens pilosa* L., *Momordica charantia* L., *Ocimum gratissimum* L., *Aframomum melegueta* K. Schum., também são frequentemente usadas. De acordo com Eidi e Eidi (2009) o extrato de sálvia (*Salvia officinalis* L.) possui atividade antidiabética dose-dependente que é comparável à droga antidiabética de referência usada no Irã. Plantas como *Allium sativum* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Nigella sativa* L., *Punica granatum* L. e *Salvia officinalis* L. são amplamente utilizadas no tratamento do diabetes no Oriente Médio (Shafiee-Nick et al., 2012; Ghorbani e Rakhshandeh, 2012; Hasani-Ranjbar et al., 2008). Outros estudos mostram que extratos de sálvia também se mostraram efetivos na melhora de sintomas relacionados ao diabetes (Eidi et al., 2005; Sá et al., 2009).

Um estudo comparativo de plantas tradicionalmente utilizadas no tratamento de diabetes na Nigéria, Marrocos e Índia de Tag et al. (2012) mostrou que estas regiões têm em comum o uso de *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, *Azadirachta indica* A. Juss, *Citrus urantiifolia* (Christm.) Swingle, *Bidens pilosa* L., *Panax pseudo-ginseng* Wallich, *Averrhoa carambola* L., *Ficus hispida* L., *Ipomoea aquatica* Forsk, *Zanthoxylum acanthopodium* DC., *Murraya koenigii* Spreng e *Tinospora cordifolia* (Thunb.) Miers. Em Taiwan, um estudo realizado por Hsu et al. (2009) indicou que a utilização do extrato aquoso de *Bidens pilosa* é efetivo no auxílio ao tratamento de diabetes do tipo II visto que regula a secreção de insulina e ajuda a proteger as Ilhotas de Langerhans. Também em Taiwan, outro estudo indicou uma boa eficácia do extrato de *Bidens pilosa* usado como antidiabético (Chien et al., 2009).

No Brasil, o uso de plantas para tratamento do diabetes é tão difundido quanto no restante do mundo. Volpato et al. (2002) indicaram 72 plantas em um trabalho de revisão dedicado ao assunto. Barbosa-Filho et al. (2005) relacionam um total de 224 espécies utilizadas nas Américas do Sul, Central e do Norte, sendo que do Brasil, 52 plantas estão relatadas. Em um levantamento etnobotânico realizado, por Borges et al. (2008) foram identificadas 65 espécies de vegetais utilizados pelas comunidades tradicionais pelas suas propriedades terapêuticas para o diabetes. Dessas, cinco espécies *Arctium minus* (bardana), *Allium sativum* (alho), *Baccharis trimeris* (Less) DC (carqueja),

*Bauhinia forficata* Link (pata-de-vaca) e *Anacardium occidentale* L. (cajueiro) têm comprovação científica dos seus efeitos hipoglicemiantes. Neste trabalho também são citadas as espécies *Eucalyptus globulus* Labill, *Syzygium jambolanum* DC., *Bidens pilosa* L., *Salvia officinalis* L., *Urtica* spp. e *Phyllanthus niruri* L. O mesmo estudo revelou que a planta *Bauhinia forficata* foi a mais citada no levantamento bibliográfico.

Além da utilização de plantas medicinais no tratamento de diabetes outro ponto que vem sendo recentemente discutido é o papel desempenhado por elementos traço no metabolismo de pessoas portadoras desta disfunção.

### **1.3 Micronutrientes x diabetes *mellitus***

Os micronutrientes são minerais essenciais para a nutrição humana e necessários em pequenas quantidades, geralmente inferiores a 100 mg/dia. As deficiências desses elementos advêm da sua ingestão inadequada e/ou diminuição da biodisponibilidade, ou podem estar relacionadas com diversas patologias que levam à diminuição da absorção, aumento da excreção e/ou utilização excessiva desses nutrientes. Como consequências das concentrações alteradas desses minerais essenciais, podem ser observados diversos sinais clínicos e sintomas específicos (Marques, 2000).

O diabetes é acompanhado por alterações na absorção dos micronutrientes, sua captação pelas células e excreção, sem relação aparente com o tipo de DM, mas de uma forma dependente da evolução da doença (Marques, 2000).

A seguir são apresentados trabalhos que investigaram a relação entre a concentração de elementos traço e o diabetes *mellitus*.

Um estudo realizado no Paquistão e Irlanda mostrou que portadores de diabetes *mellitus* do tipo II possuem níveis elevados de elementos tóxicos (Cd e Pb) e baixos de elementos essenciais (Mg, Zn, Cr e Mn) no cabelo quando comparados a um grupo controle indicando que estes elementos podem ter um papel importante no desenvolvimento da doença (Afridi et al., 2013). Spittles e Failla (1983) observaram que ratos diabéticos tiveram elevadas concentrações de Zn, Cr e Mn no fígado e Zn e Cr no rim comparado a ratos normoglicêmicos. Kazi et al. (2008) também comparam os níveis de Cr, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn em amostras de sangue, urina e cabelo de 257 pacientes diabéticos com um controle de 166 não diabéticos, tendo concluído que o aumento de Fe, Cu e Ni juntamente com a diminuição de Zn, Cr e Mn em amostras de sangue e cabelo de pacientes diabéticos podem estar relacionados com os distúrbios de secreção de insulina ou em sua ação. Estudo realizado por Wang et al. (2012) aponta que a suplementação alimentar com

Zn enquadra-se como um adjuvante potencial para o tratamento de diabetes. Outros trabalhos relacionados ao conteúdo de Zn, Se, Cr, Mg, Mn, Cu, Fe, V e Mo com disfunções metabólicas normalmente presentes em pessoas portadoras de diabetes *mellitus* podem ser encontrados em Castro (1998) que aponta que a deficiência de cromo está associada com sintomas de diabetes e a suplementação com este elemento está correlacionada com o aumento da tolerância à glicose e sensibilidade à insulina; Thompson e Godin (1995) que concluíram que de forma geral, indivíduos diabéticos podem ter exigências nutricionais diferentes da população e neste estudo foram investigados os elementos Cr, Cu, Fe, Mn, Se, V e Zn; Afridi et al. (2008) que obtiveram resultados que mostram que a média das concentrações de Mg é significativamente menor no sangue de pacientes diabéticos quando comparado aos não diabéticos; Flores et al. (2011) propuseram, em seu estudo, que o molibidênio exerce uma ação antagonista sobre o cromo, que por sua vez, estaria envolvido com o progresso do DM tipo II; e Bhanot et al. (1994) concluíram que todo paciente diabético tende a ter baixa concentração de magnésio no sangue e alta na urina. No mesmo estudo, concluíram ainda que pacientes diabéticos do tipo II podem apresentar deficiência de cromo, quer como causa ou resultado da doença.

Com relação aos nutrientes Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn, existem relatos de que a deficiência de Cr, Mg, Mn e Zn, e o excesso de Fe podem contribuir para o aumento da glicemia. Já para o vanádio, há relatos de que este elemento seja capaz de formar compostos que diminuem o nível de glicose no sangue (Sales, 2008; Müller, 2008; Nicoloff et al., 2004; Lima, 2011; Marques, 2000; Silva, 2011). Embora se proponha que certos micronutrientes afetem diretamente a glicemia e o metabolismo de insulina, a influência dos micronutrientes no risco de diabetes ainda não foi bem elucidada (Costa et al., 2011).

#### **1.4 *Salvia officinalis* L.**

O gênero *Salvia* é um dos maiores da família das Lamiaceae com aproximadamente 900 espécies e amplamente distribuídos pelo globo terrestre (Pinto, 2012). A *S. officinalis* foi descrita por Linneu em 1753. É uma espécie medicinal e aromática originária do Sul da Europa, amplamente usada na medicina para tratamentos de vários grupos de doenças, na fabricação de cosméticos e como condimento (Povh, 2008).

Popularmente a *Salvia officinalis* é conhecida como sálvia, salva, sálvia real, chá da Grécia, chá-da-França, sabiá, sal-das-boticas, salva-comum, salva-das-boticas,

salva-de-remédio, salva-dos-jardins, salva-ordinária, sálvia-comum, erva sagrada (Mafia et al., 2005; Mayer, 2007),

A *S. officinalis* é cultivada desde tempos remotos, sendo considerada um remédio para todos os males pelos gregos. Os egípcios a usavam para aumentar a fertilidade e os romanos a ingeriam para obter atividades estimulantes. Seu nome deriva do latim “salvere”, que significa saudável (Mayer, 2007).

Desenvolve-se bem em regiões de clima ameno como o sul do Brasil e quando cultivada em locais que recebam luz solar e cujo clima seja quente, sem excesso de calor. Prefere solos de terrenos bem drenados, permeáveis, argilo-arenosos, leves, ricos em matéria orgânica e nutriente, com bom suprimento inicial e periódico de nitrogênio e pode sofrer em terrenos úmidos (Zigiotta, 2007). As folhas são colhidas pouco antes da floração, uma vez que nesse momento encontra-se maior concentração de óleo essencial. As partes utilizadas, geralmente para o preparo de infusão ou decocção, são as folhas e sumidades floridas (Bannwart, 2008).

#### **1.4.1 Descrição botânica**

A *Salvia officinalis* (FIG. 1.1) é um subarbusto perene, caracteriza-se por apresentar uma altura entre 30 e 70 cm; raiz fusiforme e fibrosa; talo ereto lenhoso e quadrangular na base com numerosas ramificações; folhas opostas, cruzadas, inteiras, glandulares ou rugosas, finamente denteadas, sendo as inferiores pecioladas e as superiores sésseis, com leve tom esbranquiçado na parte de trás e verdes na frente, recobertas por uma penugem. As flores são azul-violáceas, vistosas, reunidas em densas inflorescências, agrupadas em espigas terminais em número de 7 a 10, diclamídeas, hermafroditas, pentâmeras, fortemente zigomorfas, bilabiadas, com intenso aroma e abundante néctar. O androceu é formado por dois ou quatro estames e as flores que possuem dois estames, apresentam dois estaminódios. O ovário, na família, é súpero, envolto num disco glandular unilateralmente expandido e saliente; este ovário é também bicarpelar, bilocular, com dois óvulos por lóculo e falsamente tetralocular por invaginação dos carpelos; seu estilete é ginobásico. As características das flores variam conforme a variedade da sálvia. O fruto é tetraquênio. As sementes raramente possuem endosperma e quando este aparece, é escasso e o embrião é reto. (Mayer, 2007; Zigiotta, 2007).



FIGURA 1.1: *Salvia officinalis* L.

#### 1.4.2 Uso popular

Aplicações de *S. officinalis* com intuito medicinal são conhecidas desde a Idade Média, sendo que fitopreparações com folhas e inflorescências podem ser feitas para curar inflamações na boca e garganta, gengivites, feridas, micoses, aliviar picadas de insetos, auxiliar na digestão, insônia, descongestionar as vias respiratórias (Ilkiu-Vidal et al., 2010; Amr e Đorđević, 2000), bem como aliviar dores de estômago e reumáticas (Salem et al., 2013). Segundo Russo et al. (2013) o óleo essencial dessa planta é aplicado no tratamento de uma variedade de doenças e tem demonstrado possuir atividade antimicrobiana, viricida, citotóxica e antimutagênica. Zigiotto (2007) destaca suas propriedades terapêuticas emenagoga, diaforética, germicida, antibactericida, anti-séptica, antioxidante e adstringente. De acordo com levantamento etnobotânico realizado por Borges et al. (2008), constatou-se que *S. officinalis* é utilizada por pacientes diabéticos devido a suas propriedades terapêuticas hipoglicemiantes.

A *Salvia officinalis* L. tem amplo emprego na culinária como condimento, este termo é usado genericamente para definir substâncias empregadas com a finalidade de temperar, aromatizar e/ou conservar alimentos. O potencial conservador dos alimentos relacionado à *S. officinalis* pode ser atribuído à presença dos compostos antioxidantes: ácido carnósico, o carnosol e o ácido rosmarínico, que possuem ação contra a oxidação lipídica responsável pela deterioração dos alimentos (Silva et al., 2011). A sálvia também é tradicionalmente usada em produtos de perfumaria e cosméticos (Bouaziz, 2009).



Esta planta não é recomendada para mulheres que estão grávidas ou amamentando, pois pode estimular contrações uterinas e reduzir a secreção de leite, e não deve ser tomada em casos de insuficiência renal. Pode provocar aumento da pressão arterial, bradicardia e ser tóxica para o sistema nervoso central. Portanto não deve ser consumida em grande quantidade, nem por grandes períodos de tempo (Garcia et al., 2012).

### 1.4.3 Composição química

O gênero *Salvia* é uma rica fonte de fenóis, com cerca de 160 destes já identificados, alguns dos quais pertencem exclusivamente a ele. Um grande número dos compostos polifenólicos é aparentemente formado a partir do ácido cafeico através de uma variedade de reações de condensação (Lu e Foo, 2002). A espécie *Salvia officinalis* tem como principais constituintes fitoquímicos os diterpenos, triterpenos, ácidos fenólicos e flavonoides (Kontogianni et al., 2013; Miura et al., 2001).

Entre os ácidos fenólicos identificados em *S. officinalis* se destacam: ácido rosmarínico, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido ferúlico, ácidos salvianólicos, ácido sagerínico, ácido clorogênico e o ácido 4-hidroxibenzóico. Os flavonoides são amplamente distribuídos em espécies de *Salvia* e estão presentes principalmente na forma de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos, sendo que as flavonas 6-hidroxiladas apresentam importância taxonômica para este gênero. Entre as agliconas de flavonoides que ocorrem na planta estão: apigenina, luteolina, hispidulina, genkwanina, hesperetina, nepetina, escutelareína, cirsimaritina, cirsilol e isorhamnetina. Os principais flavonoides glicosilados são: apigenina-7-glicosídeo, luteolina-7-glicosídeo, 7-glicuronídeo, 3'-glicuronídeo, homoplantagenina, vicenina-2 e vitexina (Lu e Foo, 2002, Gird et al., 2014).

Encontram-se entre os principais constituintes diterpênicos: ácido carnósico (apresenta o o-difenol em sua estrutura, por isso é facilmente oxidado) e o carnosol, principais responsáveis, ao lado do ácido rosmarínico, pela ação antioxidante, além de rosmanol, epirosmanol e rosmadial (Kontogianni et al., 2013; Miura et al., 2001; Masuda et al., 2001). Já como compostos triterpênicos, têm destaque: ácido oleanólico, ácido ursólico e ácido betulínico (Kontogianni et al., 2013).

Também foram identificados alguns monossacarídeos como arabinose (30,4%), galactose (17,9%), 3-o-metilgalactose (3,0%), glucose (15,5%), manose (8,3%), xilose (7,6%), fucose (2,6%) e ramnose (6,7%), além de ácidos úricos (8,0%) (Mayer, 2007).

#### 1.4.4 Ações farmacológicas

A atividade farmacológica de *Salvia officinalis* é proporcionada por compostos do metabolismo secundário que são encontrados nos extratos e óleo essencial da planta.

Diversas são as atividades farmacológicas atribuídas à *S. officinalis* com estudos que investigaram seus efeitos: antioxidante, antimutagênico, diurético, antifúngico, antimicrobiano, anti-inflamatório, de melhora na retenção de memória e hipoglicemiante (Kontogianni et al., 2013; Grzegorzcyk et al., 2007; Mathew e Thoppil, 2012; Bhadoriya et al., 2011; Martins et al., 2015; Eidi et al., 2006; Hayouni et al., 2008; Baricevic et al., 2001)

O efeito hipoglicemiante de *S. officinalis* foi observado em experimentos com o extrato hidroalcoólico, no qual a hiperglicemia em ratos diabéticos foi significativamente reduzida (Alarcon-Aguilar et al., 2002). Um resultado semelhante também foi obtido com o tratamento de ratos diabéticos três horas após a administração do extrato metanólico desta planta (mas não com o seu óleo essencial), observou-se ainda que não houve interferência na liberação da insulina pelo pâncreas em ratos saudáveis. (Eidi et al., 2005).

#### 1.4.5 Constituintes antidiabéticos

O uso tradicional de *Salvia officinalis* como antidiabético pode ser justificado pelos metabólitos secundários que estão presentes nas preparações feitas dessa planta. Em um estudo realizado por Moradabadi et al. (2013) a atividade hipoglicemiante de *S. officinalis* é sugerida devido aos seus flavonoides tais como caempferol, luteolina, quercetina e o possível mecanismo de ação seria a atividade inibidora de enzimas que controlam a gliconeogene. No mesmo estudo, é citado também o ácido rosmarínico, que seria capaz de diminuir a absorção de glicose no intestino.

O efeito antidiabético do ácido rosmarínico também foi avaliado por Jayanthi e Subramanian (2014), que relataram que os resultados obtidos, em experimento com ratos diabéticos, foram comparados com o da metiformina, uma droga hipoglicemiante administrada por via oral. Em trabalho realizado por Kianbakht e Dabaghian (2013) é sugerido que o ácido carnósico e o carnosol foram responsáveis pelos efeitos anti-hiperlipidêmico e anti-hiperglicêmico por meio das atividades inibidora da lipase pancreática e agonista do receptor PPAR  $\gamma$ , que tem função significante no metabolismo de glicose e lipídeos. O efeito agonista do receptor PPAR  $\gamma$  também foi notado por Rau et al. (2006), que atribuíram essa atividade ao ácido carnósico, ao carnosol e aos diterpenos fenólicos, e por

Christensen et al. (2010), que observaram que o ácido  $\alpha$ -linolênico e o ácido 12-O-metil carnósico apresentaram alta atividade agonista do receptor, enquanto que os compostos carnosol e ácidos carnósico e oleanólico apresentaram atividades menos intensas. A atividade antidiabética também é atribuída à vitexina. Segundo Shibano et al. (2008), esse metabólito seria capaz de diminuir os níveis de glicose no sangue após a alimentação.

### 1.5 *Bidens pilosa* L.

*Bidens pilosa* foi coletada e nomeada pela primeira vez por Lineu em 1753. Taxonomicamente, ela faz parte do gênero *Bidens*, que pertence à família Asteraceae. Estima-se que esse gênero é formado por 230 a 240 espécies. Acredita-se que essa erva tenha se originado na América do Sul e, a partir dessa região, tenha se espalhado para o resto do mundo (Bartolome et al., 2013; Yang, 2014).

Técnicas mínimas de agricultura são requeridas para o cultivo dessa espécie, que está entre as piores ervas daninha em todo o mundo por causa de sua invasão agressiva. A planta pode ser propagada via sementes que, depois de semeadas, podem germinar em 3 a 4 dias. Uma única planta pode produzir de 3000 à 6000 sementes. Apesar de sua preferência por sol pleno e solo levemente seco, *B. pilosa* pode crescer em terras áridas e em diferentes altitudes (Bartolome et al., 2013; Yang, 2014).

Popularmente, no Brasil, a *Bidens pilosa* é chamada de picão, picão-preto, carrapicho, carrapicho-de-agulha, carrapicho-de-duas-pontas, carrapicho-picão, coambi, cuambri, erva-picão, fura-capá, guambu, macela-do-campo, picão-amarelo, picão-das-horas, picão-do-campo, pico-pico, piolho-de-padre, espinho-de-agulha, carrapicho-de-cavalo, aceitilla e pirco (Gilbert et al., 2013).

#### 1.5.1 Descrição botânica

A *Bidens pilosa* (FIG. 1.2) é uma erva anual, monoica, ereta, ramificada, com ramos tetrágonos, glabros ou pouco pubescentes, de até 1,5 m de altura. Folhas opostas, membranosas, pecioladas, glabras ou pouco pubescentes, profundamente pinatissectas, com segmento terminal ovado, acuminado no ápice e de base atenuada, serrado na margem, e um ou dois pares de segmentos laterais, menores que o apical; folhas superiores às vezes inteiras. Flores amarelas, reunidas em inflorescências do tipo capítulo, sendo estes longo-pedunculados, dispostos em cimeiras corimbiformes laxas, terminais nos ramos. Capítulos dimorfos, de até 0,7 cm de diâmetro, com flores radiais de corola curto-ligulada, tridentada no ápice, e flores centrais de corola gamopétala, tubulosa pentâmera, ambas

hermafroditas, glabras. Brácteas involucrais de até 0,5 cm de altura, bisseriadas, as externas são lineares ou linear-espetuladas e as internas, lanceoladas, todas livres em si. Androceu com cinco estames, epipétalos, alternipétalos, sinânteros; anteras introrsas de base arredondada. Gineceu de ovário ínfero, bicarpelar, gamocarpelar, unilocular, monospermico, placentação basal; estilete bifurcado, com ramos truncados no ápice, sendo este coberto de tricomas. Receptáculos paleáceos, páleas hialinas nas margens, planas ou quase. Pappus (cálice modificado) formado por duas ou três aristas desiguais ou não, rígidas, cobertas de tricomas retrorsos, de 0,2 a 0,4 cm de comprimento. Fruto do tipo aquênio, linear, ou os radiais levemente curvos, compridos dorsiventralmente, de até 1,6 cm de comprimento, acompanhados do pappus aristado (Alice et al., 1995).



FIGURA 1.2: *Bidens pilosa* L.

### 1.5.2 Uso popular

Além de ser usada como alimento, a planta é usada como erva medicinal. Suas folhas e rebentos, frescos ou secos, são utilizados em molhos e chás. Todas as partes da planta podem ser utilizadas, frescas ou secas, como ingredientes na medicina popular. Ela é frequentemente preparada como o pó seco, decocção, maceração e tintura. O pó seco e a tintura são formulações usuais para seu uso externo, enquanto que a maceração e a decocção são usadas internamente. *B. pilosa* pode ser usada sozinha ou em conjunto com outras ervas medicinais (Bartolome et al., 2013; Yang, 2014).

Existem relatos de que *Bidens pilosa* é utilizada na medicina popular no combate de mais de 40 desordens. Entre esses relatos, citam-se as suas atividades como

antisséptico bucal, anticatarral, emenagoga, e suas aplicações nos tratamentos contra amigdalites, icterícia e diabetes (Alice et al., 1995; Bartolome et al., 2013).

### 1.5.3 Composição química

A espécie *B. pilosa* é uma rica fonte de compostos fitoquímicos, sendo que 201 destes já foram identificados nesta planta. Incluem-se entre estes 70 alifáticos (36 poliacetilenos), 60 flavonoides, 25 terpenoides, 19 fenil propanoides, 13 aromáticos, 8 porfirinas e outros 6 compostos. Há relatos que sugerem que a complexidade fitoquímica de *B. pilosa* pode ser responsável por suas diversas bioatividades (Yang, 2014).

Poliacetilenos e flavonoides, que são classes típicas do gênero *Bidens*, predominam na fitoquímica de *B. pilosa*, e são as mais reportadas quanto às atividades biológicas da planta. Entre os flavonoides são encontradas auronas, chalconas, flavanonas, flavonas e flavonóis (Silva, 2011).

De acordo com Lee et al. (2013) três compostos cafeoilquínicos (ácidos 3,4-, 3,5- e 4,5-di-*O*-cafeoilquínico) e outros três glicosídeos poliacetilenos (2- $\beta$ -D-glicopiranosiloxi-1-hidroxi-5(*E*)-trideceno-7,9,11-triino, 2- $\beta$ -D-glicopiranosiloxi-1-hidroxitrideca-5,7,9,11-tetraino e 3- $\beta$ -D-glicopiranosiloxi-1-hidroxi-6(*E*)-tetradeceno-8,10,12-triino) são citados como os principais marcadores biativos da espécie *B. pilosa* variedade *radiata*.

### 1.5.4 Ações farmacológicas

As atividades biológicas da *Bidens pilosa* levaram o Brasil a incluir a planta na lista oficial de ervas medicinais com potencial terapêutico, que são de interesse para o sistema público de saúde (Brasil, 2009). Com relação às atividades biológicas de *B. pilosa*, são investigados os seus efeitos anti-hipertensivo, antiulcerogênico, hepatoprotetor, antipirético, imunossupressor, anti-inflamatório, antileucêmico, antimalária, antibacteriano, antioxidante, antitumor e antidiabético (Silva, 2011). Quanto ao seu uso para controlar os níveis glicêmicos, há relatos que sugerem que o extrato da planta é capaz de prevenir o diabetes autoimune, e aumentar os níveis de insulina no soro (Chang et al., 2004; Chien et al., 2009).

### 1.5.5 Constituintes antidiabéticos

Recentemente alguns pesquisadores têm investigado os efeitos de formulações de *Bidens pilosa* contra o diabetes. Em seus trabalhos foram notados resultados promissores atribuídos, principalmente, a três constituintes poliacetilênicos: o 3- $\beta$ -D-glicopiranosil-1-hidroxi-6(*E*)-tetradeceno-8,10,12-triino; o 2- $\beta$ -D-glicopiranosiloxi-1-hidroxi-5(*E*)-trideceno-7,9,11-triino; e o 2- $\beta$ -D-glicopiranosiloxi-1-hidroxitrideca-5,7,9,11-tetraino (citopiloino) (Chang et al., 2004; Chang et al., 2007; Hsu et al., 2009; Lai et al., 2015; Ubillas et al., 2000). Acredita-se que esses compostos previnem o DM tipo I e melhoram o quadro do DM tipo II. Um efeito imunomodulador sobre a diferenciação dos linfócitos T (diferenciação do linfócito Th0 para Th1 promove o DM tipo I, enquanto que a diferenciação para Th2 diminui o risco de desenvolver o DM tipo I) e a produção de citocinas conduz à supressão do diabetes autoimune (DM tipo I). Enquanto que a melhora do DM tipo II seria provocado pela regulação das funções das células  $\beta$ , produção de insulina e preservação das células  $\beta$  (Yang, 2014). Compostos presentes em *B. pilosa* como o ácido cafeoilquínico e seus derivados, entre eles o ácido clorogênico, também são investigados quanto a sua atividade hipoglicemiante (Wu, et al., 2014; Park, 2010; Islam et al., 2013). Sugere-se que esses compostos contribuem por diminuir a resistência à insulina, regular os metabolismos de glicose e lipídeo no fígado (Wu et al., 2014) e diminuir a absorção de glicose no intestino (Islam et al., 2013).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo específico

- Estudar os elementos Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn em duas plantas medicinais comumente utilizadas no Brasil para tratamento de diabetes: *Bidens pilosa* (picão) e *Salvia officinalis* (sálvia), e avaliar sua influência na produção de metabólitos secundários que podem atuar como agentes hipoglicêmicos.

### 2.2 Objetivos gerais

- Avaliar o desenvolvimento de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis*, ambas cultivadas com e sem o acréscimo da solução de nutrientes aos seus substratos de crescimento.
- Realizar a caracterização elementar (elementos traço e maiores) da *Bidens pilosa* e da *Salvia officinalis*.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Cultivo das plantas

As amostras de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis* foram obtidas através do plantio de sementes das referidas espécies. As sementes de *B. pilosa* foram provenientes de região de campo, pois se trata de uma planta espontânea, enquanto que as sementes de *S. officinalis* (da marca Topseed Garden) foram obtidas em casa especializada na comercialização de produtos vegetais.

O plantio das sementes foi feito em sementeiras preenchidas com substrato, contendo farinha de osso, torta de mamona, cloreto de potássio, superfosfato simples, fibra de coco e vermiculita (FIG. 3.1). O substrato fornece as condições químicas e físicas favoráveis à germinação das sementes e ao seu desenvolvimento, dando sustentação às plântulas (Maas, 2010). As mudas formadas foram transferidas para canteiros codificados como controle e tratamento (FIG. 3.2). Os canteiros foram montados em telhas do tipo fibrocimento medindo, aproximadamente, 1,00 m de largura, 1,85 m de comprimento e 0,30 m de altura. As telhas foram furadas, e um sistema de drenagem foi feito para auxiliar no escoamento de água. Para finalizar o preparo dos canteiros, foi adicionado solo rico em matéria orgânica.



FIGURA 3.1: Sementeira preenchida com substrato



FIGURA 3.2: Montagem dos canteiros

Durante o desenvolvimento das plantas foram adicionados, à base das amostras do grupo tratamento, 50 mL de solução de micronutrientes contendo Cr ( $1 \text{ mg.L}^{-1}$ ), Fe ( $50 \text{ mg.L}^{-1}$ ), Mg ( $20 \text{ mg.L}^{-1}$ ), Mn ( $1 \text{ mg.L}^{-1}$ ), V ( $1 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e Zn ( $1 \text{ mg.L}^{-1}$ ). A solução foi



adicionada uma vez a cada semana para *Bidens pilosa*, por um período aproximado de um mês, já para *Salvia officinalis* a solução foi adicionada uma vez por mês durante quatro meses, aproximadamente.

As amostras de solo foram coletadas em dois momentos: antes do transplante das mudas e no momento da coleta das plantas. As amostras coletadas antes do transplante das mudas foram codificadas como: SBC-P (Solo Bidens Controle Pré-tratamento), SBT-P (Solo Bidens Tratamento Pré-tratamento), SSC-P (Solo Salvia Controle Pré-tratamento) e SST-P (Solo Salvia Tratamento Pré-tratamento).

De cada canteiro, foram coletadas 10 amostras de plantas e seus respectivos solos. Separando-se as matrizes (solo e planta), as amostras foram agrupadas duas a duas e o trabalho foi desenvolvido com cinco amostras de plantas e solos por canteiro.

As amostras de solo coletadas juntamente com as plantas foram codificadas como: SBC (Solo Bidens Controle), SBT (Solo Bidens Tratamento), SSC (Solo Salvia Controle) e SST (Solo Salvia Tratamento) todas numeradas de 1 a 5. As amostras de plantas foram nomeadas conforme o canteiro onde cresceram e codificadas como: BC (Bidens Controle), BT (Bidens Tratamento), SC (Salvia Controle) e ST (Salvia Tratamento) e numeradas de 1 a 5.

As plantas adultas foram coletadas, lavadas com água Milli-Q, secas e separadas para realização da análise por ativação neutrônica instrumental (INAA) e preparação dos extratos alcoólicos e aquosos.

Algumas características das amostras como massa fresca e altura das plantas, comprimento e largura das folhas foram verificadas após a coleta. Para verificar estas características físicas, foram utilizadas 10 plantas e cinco folhas de cada uma delas. As medidas foram realizadas com balança analítica e régua graduada transparente.

Todas as etapas de cultivo das plantas foram realizadas no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), situado na Universidade de São Paulo, São Paulo.

Uma amostra de *Bidens pilosa* e uma de *Salvia officinalis* foram separadas e depositadas no herbário municipal de São Paulo onde as plantas foram identificadas e transformadas em exsiccatas. A *B. pilosa* foi incluída no acervo do herbário sob o número PMSP 15857 e a *S. officinalis* sob o número PMSP 15858.

### 3.2 Preparo dos extratos

As partes das plantas utilizadas para produzir os extratos alcoólicos e aquosos foram escolhidas conforme o anexo I da resolução RDC nº 10, de 9 de março de 2010 (ANVISA, 2010b). Portanto, para *Bidens pilosa* utilizaram-se as partes aéreas, e para *Salvia officinalis* apenas as folhas. As plantas foram picotadas antes da adição do líquido extrator.

Os extratos alcoólicos (FIG. 3.3) foram preparados por meio do método de maceração descrito pela Farmacopeia Homeopática Brasileira 3ª ed. (ANVISA, 2011) a fim de ser obtida a tintura-mãe (TM). De cada amostra de planta seca foi separada uma alíquota de dois gramas e a ela adicionados 20 mL de etanol 60%. O líquido extrator ficou em contato com a amostra durante 15 dias em um recipiente protegido da ação direta de luz e calor. O recipiente foi agitado manualmente uma vez ao dia durante esse período. Posteriormente o líquido foi filtrado e armazenado em freezer. Os extratos alcoólicos foram codificados da seguinte maneira: EABC (Extrato Alcoólico Bidens Controle), EABT (Extrato Alcoólico Bidens Tratamento), EASC (Extrato Alcoólico Salvia Controle) e EAST (Extrato Alcoólico Salvia Tratamento) e numerados de 1 a 5.

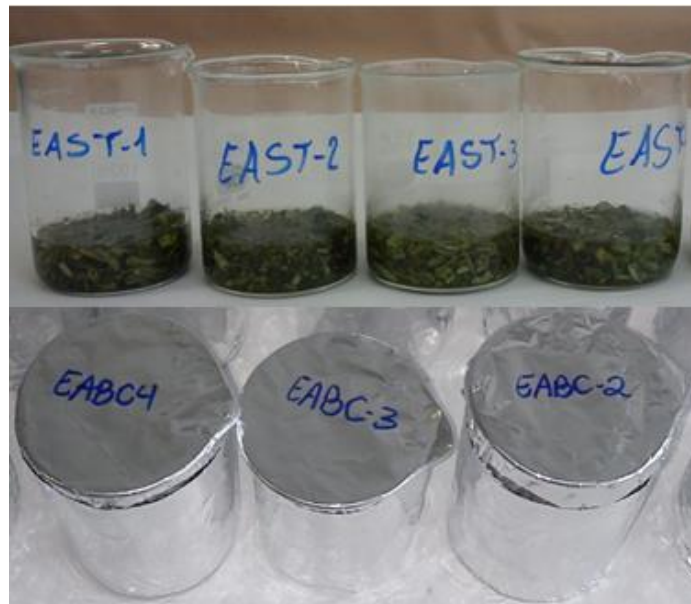


FIGURA 3.3: Extratos alcoólicos em maceração

Os extratos aquosos (FIG. 3.4) foram preparados pelo método de infusão encontrado na RDC nº 10, de 9 de março de 2010 em seu anexo I (ANVISA, 2010b). Portanto, tanto para *B. pilosa* quanto para *S. officinalis* foram colocados 150 mL de água Milli-Q fervente sobre uma alíquota de dois gramas de cada amostra. Em seguida abafou-

se a infusão por 15 minutos e, após o resfriamento, o líquido foi filtrado e armazenado em freezer. Os extratos aquosos foram identificados como: EAqBC (Extrato Aquoso Bidens Controle), EAqBT (Extrato Aquoso Bidens Tratamento), EAqSC (Extrato Aquoso Salvia Controle) e EAqST (Extrato Aquoso Salvia Tratamento) e numerados de 1 a 5.



FIGURA 3.4: Extratos aquosos em infusão

Os extratos aquosos e alcoólicos preparados tiveram seus volumes ajustados para 50 mL, então esse volume foi dividido em duas alíquotas de 25 mL, uma destinada às análises por INAA e a outra para as análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).

### 3.3 pH do solo

A avaliação do pH do solo é imprescindível à produção agrícola. Solos que apresentam pH ácido possuem baixo teor de cátions básicos e alta toxidez por alumínio, o que afeta diretamente o crescimento radicular e a absorção de água e nutrientes pelas plantas (Garbuio, 2009).

A análise do pH do solo foi feita em triplicata com amostras representativas do solo contido nos canteiros, coletadas previamente ao plantio das mudas. Foram misturados 10 mL de amostras de solo seco (40°C) em 25 mL de solução de KCl a 1 mol L<sup>-1</sup>, após agitação, foram feitas as leituras de pH com peagômetro de bancada da marca Quimis<sup>®</sup> previamente calibrado com soluções padrão de pH 4 e pH 7 (EMBRAPA, 1997).

### 3.4 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental

O primeiro trabalho sobre o processo de Análise por Ativação Neutrônica (AAN) foi publicado por George de Hevesy e Hilde Levi em 1936. Eles descobriram que elementos terras raras tornam-se radioativos após sua ativação por nêutrons térmicos. Essa descoberta tornou cada vez mais popular a indução de radioatividade e observação do decaimento nuclear resultante a fim de identificar um elemento, processo que se conhece agora como Análise por Ativação Neutrônica - AAN (Heimann e Barron, 2014).

#### 3.4.1 Princípios do método

A análise por ativação com nêutrons é um método de análise multielementar não destrutivo que apresenta alta especificidade, seletividade e sensibilidade, podendo-se determinar a identidade e concentração de elementos em níveis de porcentagem a  $\text{ng.g}^{-1}$  em diversos materiais (Heimann e Barron, 2014).

A Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA) é a forma mais simples de AAN. Ela envolve a irradiação direta da amostra, que não é submetida a nenhuma separação ou tratamento químico antes da detecção. A técnica de INAA consiste no bombardeamento de um dado material, por nêutrons ( $n$ ) livres a partir de uma fonte de nêutrons, seguido da medida da radioatividade induzida. Diferentemente de muitas outras técnicas analíticas, o método baseia-se em transições nucleares e não nas eletrônicas. As transições nucleares resultam da interação de um nêutron com um núcleo alvo produzindo um núcleo composto, em estado excitado, que irá decair para um estado de menor energia (até o estado estável) de acordo com a meia vida do nuclídeo formado, através de uma variedade de formas, incluindo a emissão de nêutrons, prótons ( $p$ ), partículas alfa ( $\alpha$ ), partículas beta ( $\beta$ ), e fótons de raio gama ( $\gamma$ ) de alta energia. A reação ( $n, \gamma$ ) é a mais comumente empregada em análise por ativação devido a sua maior probabilidade de ocorrência, tanto com nêutrons térmicos (energia menor que 0,25 eV) como com nêutrons epitérmicos (energia entre 0,25 e 100 keV). As atividades induzidas são determinadas por meio de detectores semicondutores que, possuem grande capacidade para medir e discriminar as energias dos raios gama emitidos pelos nuclídeos excitados (Heimann e Barron, 2014).

A intensidade da radiação emitida é proporcional à concentração do nuclídeo na amostra e, uma vez que, cada radioisótopo produzido no processo de ativação possui características próprias de emissão (meia vida e energia das partículas ou radiação gama), é possível efetuar determinações por meio de comparação com a concentração em padrões

certificados. Os padrões de comparação possuem quantidade conhecida do elemento de interesse e são irradiados juntamente com as amostras e nas mesmas condições. Este método comparativo permite determinar as concentrações desconhecidas dos elementos de interesse a partir das taxas de contagens da amostra e do padrão, conhecendo as massas dos mesmos (Guimarães, 2011).

A equação utilizada para calcular a concentração de um elemento desconhecido na amostra em relação ao padrão de comparação é apresentada na EQUAÇÃO 3.1.

$$C_{ai} = \frac{(A_{ai} \ m_p \ C_{pi}) e^{\lambda(t_a - t_p)}}{A_{pi} \ m_a} \quad \text{(EQUAÇÃO 3.1)}$$

sendo:

$C_{ai}$  : concentração do elemento i na amostra ( $\mu\text{g g}^{-1}$  ou %)

$C_{pi}$ : Concentração do elemento i no padrão ( $\mu\text{g g}^{-1}$  ou %)

$A_{ai}$ : Atividade do elemento i na amostra (cps)

$A_{pi}$ : Atividade do elemento i no padrão (cps)

$m_a$  e  $m_p$ : massas da amostra e do padrão, respectivamente (g)

$\lambda$ : Constante de decaimento do radioisótopo ( $t^{-1}$ )

$t_a - t_p$  : diferença de tempo entre as contagens da amostra e padrão, respectivamente (Gonçalves, 1997).

### 3.4.2 Preparação e irradiação das amostras

As amostras de plantas foram inicialmente lavadas com água Milli-Q para remoção de material estranho que são, de acordo com a Farmacopeia Brasileira IV (ANVISA, 1996), organismos ou partes de organismos, impurezas de natureza minerais ou orgânicas não inerentes à planta. Em seguida as amostras foram secas em estufa a 40 °C. Essa temperatura permitir secar as amostras até um peso constante e conservar as propriedades das plantas. As amostras secas foram moídas com o auxílio de gral e pistilo previamente descontaminados com  $\text{HNO}_3$  e, em seguida, peneiradas em peneiras com abertura de 0,150 mm.

Amostras de solo foram secas em estufa a 60 °C até peso constante, em seguida foram moídas e peneiradas como no procedimento descrito para as plantas.

Para determinação da concentração dos elementos de meia-vida curta (Mg, Mn e V) foram empacotados, em saquinhos de polietileno, aproximadamente 70 mg de amostras de plantas e 30 mg de amostras de solo e o tempo de irradiação foi de 15

segundos (irradiação curta). Já para se determinar os elementos de meia-vida longa (Cr, Fe e Zn) foram utilizados aproximadamente 150 mg de plantas e 100 mg de solo e o tempo de irradiação foi de 8 horas (irradiação longa). Nas mesmas análises de irradiação longa foram determinados também os elementos Ba, Br, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Na, Rb, Sc, Sm, Ta, Th, Yb, Zn e Zr.

Os extratos alcoólicos e aquosos separados para serem analisados pela técnica de INAA foram transferidos para béqueres, colocados sobre uma chapa aquecedora, evaporados próximo à secura e pipetados em folhas de papel de filtro. Os béqueres foram lavados com soluções dos mesmos solventes, que foram novamente evaporados próximo à secura e transferidos para os papéis de filtro. Este processo se repetiu por 4 a 6 vezes para garantir uma transferência quantitativa dos extratos. Ao final, estes papéis de filtro foram acondicionados em embalagens de polietileno e selados. Para as irradiações curtas as amostras e padrões acondicionados em embalagens de polietileno foram embrulhados em uma fina camada de papel e, em seguida, colocados em tubos de polietileno (coelho) para serem irradiados. Nas irradiações longas, as amostras, os materiais de referência e os padrões sintéticos foram embrulhados em papel alumínio e colocados em tubos de alumínio (coelhos) para a irradiação.

Os materiais de referência certificados Estuarine Sediment, SRM 1646a (ES) do National Institute of Standards and Technology (NIST) e Syenite, Table Mountain (STM) do United States Geological Survey (USGS), e as soluções padrões (SPEX Certiprep) pipetadas em folhas de papel de filtro foram irradiados juntamente com as amostras e nas mesmas condições.

As irradiações foram realizadas no reator nuclear IEA-R1 sob um fluxo de nêutrons de  $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Após a irradiação curta das amostras de solo, aguardou-se tempo de decaimento de aproximadamente 13 minutos (devido ao teor de alumínio nas amostras de solo), então se iniciou a contagem, por 3 minutos, para determinação de Mg e V. Para amostras de plantas, aguardou-se tempo de decaimento de aproximadamente 5 minutos, então se iniciou a contagem que durou 3 minutos para determinação de Mg e V. Para a determinação de Mn em ambas amostras de planta e solo, o tempo de decaimento foi de no mínimo 60 minutos e as contagens foram feitas por 20 minutos. Os padrões foram contados da mesma forma que as amostras.

As concentrações dos elementos (Br, La, Na, Sm e Yb) foram determinadas num período de 7 a 10 dias após a irradiação longa das amostras e os demais elementos, após um período de 15 a 20 dias. Os tempos de contagem foram de 2 horas para as

amostras e de 1 hora para os padrões. As contagens foram realizadas em um detector de germânio hiperpuro EG & G ORTEC modelo GEM20190 com 20% de eficiência e resolução nominal de 1,90 keV para energia da transição gama de 1332 keV do  $^{60}\text{Co}$ . A análise dos espectros gerados das contagens das irradiações curtas e longas foi feita utilizando-se o programa VISPECT2 e os cálculos foram feitos em planilha eletrônica.

Na TAB. 3.1 estão presentes os elementos determinados, os radioisótopos formados na ativação, a energia das transições gama utilizadas na espectrometria gama e suas respectivas meias-vidas.

TABELA 3.1: Elementos determinados por ativação neutrônica, radioisótopos formados na ativação, energias dos raios gama utilizadas na espectrometria gama e suas respectivas meias-vidas.

Elementos	Radioisótopo	E (keV)	Meia-Vida
Ba	$^{131}\text{Ba}$	496,26	11,8 dias
Br	$^{82}\text{Br}$	554,35 e 776,52	35,3 horas
Ca	$^{47}\text{Sc}$	159,38	3,35 dias
Ce	$^{141}\text{Ce}$	145,44	32,5 dias
Co	$^{60}\text{Co}$	1173,24 e 1332,5	5,27 anos
Cr	$^{51}\text{Cr}$	320,08	27,7 dias
Cs	$^{134}\text{Cs}$	795,85	2,06 anos
Eu	$^{152}\text{Eu}$	121,78 e 1408	13,33 anos
Fe	$^{59}\text{Fe}$	1099,25 e 1291,60	44,5 dias
Hf	$^{181}\text{Hf}$	482,18	42,39 dias
La	$^{140}\text{La}$	328,76 e 1596,21	40,27 horas
Lu	$^{177}\text{Lu}$	208,36	6,71 dias
Mg	$^{27}\text{Mg}$	843,76 e 1014,43	9,46 minutos
Mn	$^{56}\text{Mn}$	846,76 e 1810,72	2,58 horas
Na	$^{24}\text{Na}$	1368,6	14,96 horas
Rb	$^{86}\text{Rb}$	1076,6	18,66 dias
Sc	$^{46}\text{Sc}$	889,28	83,81 dias
Sm	$^{153}\text{Sm}$	103,18	46,27 horas
Ta	$^{182}\text{Ta}$	1221,41	114,5 dias
Th	$^{233}\text{Pa}$	312,01	27 dias
V	$^{52}\text{V}$	1434,08	3,75 minutos
Yb	$^{169}\text{Yb}$	177,21 e 197,96	32,02 dias
Zn	$^{65}\text{Zn}$	1115,55	243,9 dias
Zr	$^{95}\text{Zr}$	724,2 e 756, 73	64,02 dias

### 3.4.3 Verificação da metodologia

Para o controle de qualidade do método foram utilizados os materiais de referência SRM 1646a e STM, calculando-se a concentração de um em função do outro. Foram realizadas cinco determinações para cada material de referência.

Nas TAB. 3.2 e 3.3 são apresentados os valores médios das concentrações obtidas, os valores certificados ou informativos, os valores de desvio padrão relativo (DPR) e o erro relativo (ER) para avaliação da precisão e da exatidão das determinações nos materiais de referência analisados. Não foram calculados o DPR e ER para bromo, pois este elemento não possui valor certificado ou informativo nos materiais de referência certificados utilizados neste estudo.

TABELA 3.2: Média das concentrações obtidas, em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , para o material de referência SRM 1646a, valor certificado, em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto onde indicado %, desvio padrão relativo (DPR) e erro relativo (ER) em %. N = 5.

<b>Padrão SRM 1646a</b>				
<b>Elemento</b>	<b>Valor calculado</b>	<b>Valor certificado</b>	<b>DPR</b>	<b>ER</b>
Ba	211 ± 28	210	13,24	
Ca(%)	0,8 ± 0,1	0,519 ± 0,02	15,23	47,43
Ce	39 ± 4	34	9,07	
Co	4,3 ± 0,1	5	2,48	
Cr	40,0 ± 0,9	40,9 ± 1,9	2,18	2,15
Fe(%)	2,03 ± 0,05	2,008 ± 0,039	2,54	1,07
La	19 ± 1	17	7,37	
Na(%)	0,77 ± 0,05	0,741 ± 0,017	6,16	3,83
Rb	33 ± 4	38	11,86	
Sc	4,46 ± 0,03	5	0,67	
Th	5,3 ± 0,9	5,8	18,58	

De modo geral, as concentrações encontradas nos materiais de referência SRM 1646a e STM por meio da técnica de INAA estiveram próximas dos valores certificados ou informados. O desvio padrão relativo variou de 0,67 a 18,58 para SRM 1646a e de 0,77 a 17,83 para STM, enquanto que o erro relativo variou de 1,07 a 47,43% para o SRM 1646a e de 0,001 a 31,310 para o STM. Considerando-se os níveis de concentração a que estão relacionados, pode-se verificar que foram obtidas boas precisão e exatidão para a maioria dos elementos. Valores relativamente altos de DPR e ER são observados, geralmente, para o cálcio.



TABELA 3.3: Média das concentrações obtidas, em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , para o material de referência STM, valor certificado, em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto onde indicado %, desvio padrão relativo (DPR) e erro relativo (ER) em %. N = 5.

<b>Padrão STM</b>				
<b>Elemento</b>	<b>Valor calculado</b>	<b>Valor certificado</b>	<b>DPR</b>	<b>ER</b>
Ba	645 ± 60	639 ± 61	9,32	0,94
Ca(%)	0,54 ± 0,08	0,78 ± 0,03	15,37	31,31
Ce	221 ± 3	256 ± 23	1,24	13,56
Cs	1,5 ± 0,2	1,52 ± 0,06	11,1	0,3
Eu	3,67 ± 0,06	3,45 ± 0,25	1,6	6,44
Fe(%)	3,73 ± 0,08	3,77 ± 0,09	2,13	0,96
Hf	30,6 ± 0,3	27 ± 0,8	1,11	13,43
La	136 ± 3	154 ± 11	1,98	11,64
Lu	0,71 ± 0,02	0,6 ± 0,04	2,47	18,43
Na(%)	6,4 ± 0,2	6,61 ± 0,38	3,23	3,29
Rb	135 ± 10	114 ± 11	7,22	18,27
Sm	12,4 ± 0,1	12 ± 0,9	0,77	3,03
Ta	16,0 ± 0,2	16 ± 1,1	1,51	0,001
Th	29,5 ± 0,5	27 ± 5	1,52	6,31
Yb	4,5 ± 0,2	4,2 ± 0,8	3,42	6,99
Zn	215 ± 7	223 ± 19	3,25	3,55
Zr	1377 ± 52	1280 ± 62	3,77	7,54

#### 3.4.4 Limite de detecção

Quando são realizadas medidas em amostras com baixos níveis do analito, por exemplo, análise de traços, é importante saber qual o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método, por isso foi verificado o limite de detecção (LD), que é calculado conforme a EQUAÇÃO 3.2. O LD é a menor quantidade de analito na amostra teste que pode ser seguramente distinguida de zero (Thompson et al., 2002).

$$LD = \frac{3V\sqrt{Bg}}{TC} \quad (\text{EQUAÇÃO 3.2})$$

Sendo:

V = valor certificado ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Bg = contagens da radiação de fundo no fotopico do elemento de interesse (contagens)

T = tempo de contagem (s)

C = contagens no fotopico do elemento de interesse (cps)

Foram analisadas 9 amostras de cada matriz estudada para determinação do LD. Na TAB. 3.4 são apresentadas as médias dos valores de limite de detecção calculados para os elementos presentes nas amostras de solo, planta e extrato.

TABELA 3.4: Valores de limites de detecção (LD) da técnica de INAA ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) obtidos em matrizes de solo, planta e extratos.

<b>Elemento</b>	<b>Solo</b>	<b>Planta</b>	<b>Extrato</b>
Ba	59,64	9,51	0,041
Br	1,55	0,14	0,033
Ca(%)	0,062	0,058	0,012
Ce	1,14	1,04	0,003
Co	0,76	0,021	0,0085
Cr	1,57	0,37	0,061
Cs	2,57	0,078	0,015
Eu	0,22	0,017	0,0021
Fe(%)	0,0049	0,0012	0,00030
Hf	0,12	0,18	0,0004
La	0,44	0,13	0,0001
Lu	0,33	0,049	0,00001
Mg	3062,65	513,43	211,72
Mn	3,59	0,85	0,11
Na(%)	0,0033	0,0041	0,00012
Rb	5,30	0,69	0,24
Sc	0,093	0,0048	0,00060
Sm	0,37	0,023	0,0002
Ta	0,21	0,018	0,0002
Th	0,14	0,089	0,0003
V	11,68	1,90	-
Yb	1,17	0,031	0,0006
Zn	8,28	0,66	0,23
Zr	133,67	10,87	0,07

### 3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) é uma das técnicas mais empregadas em diversas indústrias como alimentícias, farmacêuticas, petroquímicas e laboratórios de análises clínicas, etc., nas quais frequentemente é necessário purificar, isolar ou quantificar substâncias de misturas muito complexas. A técnica é fundamentada na separação de constituintes de uma mistura por meio de sua afinidade por duas fases imiscíveis, a fase móvel, líquida, e a fase estacionária, sólida, contida em uma coluna cilíndrica. As separações são alcançadas por partição, adsorção, troca iônica, exclusão por

tamanho ou interações estereoquímicas, dependendo do tipo de fase estacionária utilizada (ANVISA, 2010a; Assis, 2014).

A fase estacionária está contida em colunas de aço inox de diâmetro interno em torno de 2 a 5 mm. A fase móvel, por sua vez, circula sob alta pressão e fluxo controlado ao longo da coluna. Esta alta pressão permite análises mais rápidas e o uso de fases estacionárias constituídas por partículas cada vez menores permite uma elevada eficiência na separação (Assis, 2014).

De acordo com o tipo do recheio da coluna, a técnica de HPLC é classificada em fase normal ou em fase inversa. Na cromatografia em fase normal, tem-se uma fase estacionária polar e conseqüentemente uma fase móvel apolar. Enquanto que em fase inversa, tem-se uma fase estacionária apolar e uma fase móvel polar. Este sistema se baseia em forças atrativas entre solutos não polares e grupos funcionais não polares ligados a um suporte de sílica (Assis, 2014).

Após a amostra ser introduzida no sistema cromatográfico, as substâncias com maior afinidade com a fase estacionária se movem mais lentamente, já as substâncias com pouca afinidade com a fase estacionária se movem mais rapidamente. Desta forma os constituintes da mistura passam pelo detector em tempos diferentes, então os resultados são registrados na forma de cromatogramas. O cromatograma é a resposta do detector na forma de gráfico, representando assim, a concentração do analito no eluído em função do tempo ou do volume de eluição (Assis, 2014).

Em relação à composição da fase móvel em uma análise, tem-se que quando a concentração da fase móvel é alterada ao longo de uma corrida cromatográfica, trata-se de uma eluição em gradiente. Nos casos em que a concentração da fase móvel se mantém constante durante toda a análise o tipo de eluição é conhecido como isocrático (Assis, 2014).

Detectores ultravioleta-visível (UV-Vis) são bastante empregados em HPLC para a análise de metabólitos secundários de plantas. Entre os detectores desse tipo está o detector de arranjo de diodos (DAD), o qual foi utilizado neste trabalho. Este equipamento é capaz de analisar diferentes comprimentos de onda simultaneamente, o que torna possível fazer uma “varredura” na região do UV-Vis em uma única corrida cromatográfica (Vila, 2006).

### 3.5.1 Preparo das amostras

As amostras de extratos de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis* foram acondicionadas em frascos e estes colocados em nitrogênio líquido para o congelamento das amostras, que posteriormente foram secas em liofilizador. Ao término do processo de liofilização, aproximadamente 5 mg de cada amostra de extrato seco foram colocados em frascos do tipo ependorf. Dentro destes frascos as amostras secas dos extratos foram solubilizadas com, aproximadamente, 1 mL do líquido extrator (água Milli Q para os extratos aquosos e etanol 60% para os extratos alcoólicos) a fim de se obter uma solução em concentração de 5 mg/mL. É importante enfatizar que todas as amostras foram preparadas de modo a terem a mesma concentração para tornar direta a comparação entre os picos gerados no cromatograma, e que são referentes às amostras dos grupos controle e tratamento. Além disso, verificou-se em análises preliminares que, nessa concentração, os picos gerados foram intensos o suficiente para serem analisados. Os extratos solubilizados foram filtrados com o auxílio de microfiltros e seringas descartáveis e colocados em frascos apropriados e em seguida foram analisados em triplicata.

### 3.5.2 Análise dos extratos obtidos de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis*

Para as análises dos extratos aquosos e alcoólicos de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis*, foi utilizado um cromatógrafo da marca Agilent Technologies®, modelo LC 1260 com detector UV-Vis com arranjo de diodos (HPLC-DAD).

As análises de cromatografia líquida de alta eficiência dos extratos alcoólicos e aquosos foram realizadas no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

Os metabólitos secundários de *B. pilosa* determinados foram o ácido 3-cafeoilquínico e o ácido 5-cafeoilquínico, este último citado por muitos autores como ácido clorogênico (Maria e Moreira, 2004). Nos extratos de *S. officinalis* foram determinados o ácido rosmarínico e a vitexina. As formulas estruturais dos analitos citados são apresentadas na FIG. 3.5. A escolha destes compostos foi feita com base em pré-análise dos extratos e em revisão da literatura, em que se constatou a ação antidiabética desses metabólitos (Andrade-Cetto e Wiedenfeld, 2001; Murad, 2013; José-Chagas et al., 2014; Wu, et al., 2014; Jayanthi e Subramanian, 2014; Hasanein e Zaheri, 2014; Choo, et al., 2012; Choi et al., 2014).

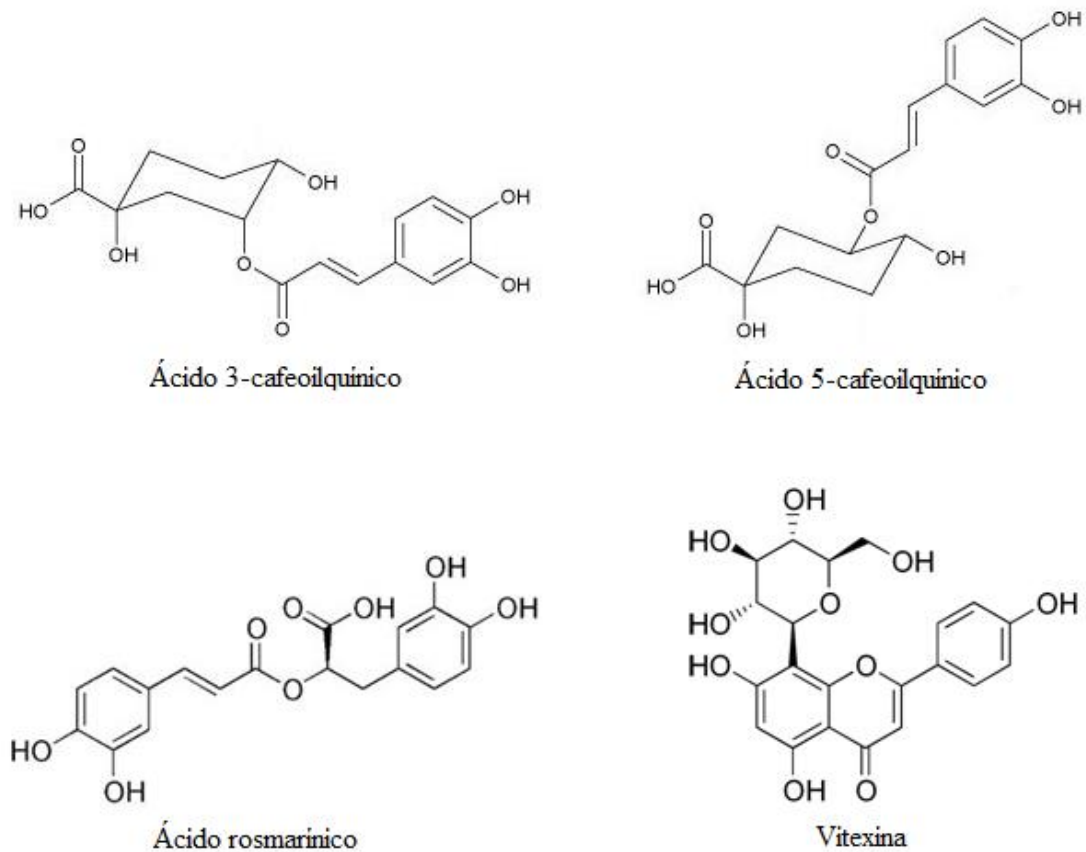


FIGURA 3.5: Metabólitos secundários determinados nos extratos de *B. pilosa* e *S. officinalis*

Para identificação e quantificação dos compostos nas amostras, foram feitas comparações dos tempos de retenção encontrados nas amostras com os tempos de retenção de padrões comerciais puros.

### 3.5.3 Parâmetros cromatográficos utilizados nas análises

Faixa de detecção: UV-Vis 200-600nm

Fluxo do eluente: 1 mL/min

Coluna: Zorbax Eclipse Plus C18 (150 x 4,6mm, 3,5 $\mu$ m)

Fase móvel: água com 0,1% de ácido acético (eluente A) e acetonitrila (eluente B)

Gradiente de solventes: TAB. 3.5

Volume de injeção: 10  $\mu$ L

Temperatura do forno: 45°C

Célula de fluxo: 60 mm

Velocidade de detecção: 80Hz

Comprimento de onda de detecção: 352 nm

TABELA 3.5: Gradiente de solventes utilizados na análise cromatográfica por HPLC.

<b>Tempo</b> (minutos)	<b>Solventes</b>	
	Eluente A (%)	Eluente B (%)
0-6	90	10
6-7	90-85	10-15
7-22	85	15
22-23	85-80	15-20
23-33	80	20
33-34	80-75	20-25
34-44	75	25
44-54	75-50	25-50
54-60	50-0	50-100

### 3.6 Análise estatística

Os dados obtidos para as características morfológicas analisadas, o teor dos elementos traço e dos metabólitos secundários investigados foram analisados estatisticamente por meio de teste-t para amostras independentes com dados resumidos e nível de confiança de 95%, por análise descritiva (Boxplot) utilizando o software Action versão 2.9 e, por fim, pela análise do coeficiente de correlação.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Cultivo das plantas

Durante o cultivo foi avaliado o desenvolvimento das plantas das espécies de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis* a fim de verificar se houve diferença entre os grupos controle e tratamento nas condições em que as plantas foram cultivadas.

As sementes de *Bidens pilosa*, plantadas em sementeiras começaram a germinar após quatro dias. Nas sementeiras, as amostras de *B. pilosa* foram cultivadas por um período de aproximadamente 45 dias. Ao fim deste período as mudas apresentavam altura de aproximadamente 10 cm e quatro pares de folhas (FIG. 4.1). Para *Salvia officinalis* o plantio em sementeira foi realizado duas vezes. Na primeira tentativa a germinação teve início seis dias após o plantio e as mudas se desenvolveram por pouco mais de um mês. As mudas formadas eram alongadas, mediam cerca de 13 cm de altura e tinham três ou quatro pares de folhas (FIG. 4.2). Na segunda tentativa as sementes começaram a germinar no mesmo período que a anterior. O tempo de cultivo para obter as mudas foi de aproximadamente dois meses. As mudas formadas no final desse período tinham altura de aproximadamente 7 cm e quatro pares de folhas.



FIGURA 4.1: Mudanças de *Bidens pilosa* L.



FIGURA 4.2: Mudanças de *Salvia officinalis* L.

Todas as mudas formadas foram transferidas para os canteiros, onde foram cultivadas até o momento da coleta. Em seus respectivos canteiros, as amostras de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento foram cultivadas por aproximadamente dois meses. Após a coleta, foram verificadas massa fresca e altura das plantas, bem como o comprimento e largura das folhas de *B. pilosa*. Os dados encontrados para essas características são apresentados nas TAB. 4.1 e 4.2.

A primeira tentativa de cultivar a *Salvia officinalis* nos canteiros resultou em morte das amostras dos grupos controle e tratamento poucos dias após o transplante. Em razão deste resultado, realizou-se uma segunda tentativa de cultivo nos canteiros com novas mudas. Essas mudas foram cultivadas por aproximadamente quatro meses até serem coletadas. As características físicas da *S. officinalis* referentes a este plantio encontram-se nas TAB. 4.3 e 4.4. Nestas tabelas não estão presentes os dados referentes à altura das plantas, visto que estas se desenvolviam de forma muito ramificada, sendo, portanto, impreciso avaliar mudanças em suas características físicas por meio deste parâmetro.

TABELA 4.1: Características físicas das amostras de *Bidens pilosa* do grupo controle.

<i>B. pilosa</i> controle	Massa planta fresca (g)	Altura da planta (cm)	Largura média das folhas (cm)	Comprimento médio das folhas (cm)
BC1	29,76	66,0	2,7	6,1
BC2	41,70	73,0	2,4	6,1
BC3	12,88	47,5	2,0	5,0
BC4	34,32	60,3	2,4	5,4
BC5	54,11	78,5	3,4	8,0
BC6	20,86	60,0	2,3	5,8
BC7	16,42	51,5	2,3	5,6
BC8	25,20	63,0	2,7	6,2
BC9	8,27	51,0	2,1	4,4
BC10	35,50	59,0	3,4	7,3
<b>Média</b>	27,90	61,0	2,6	6,0
<b>DP</b>	14,06	9,8	0,5	1,1
<b>CV</b>	50,40	16,00	18,76	17,66

DP = desvio padrão

CV = coeficiente de variação



TABELA 4.2: Características físicas das amostras de *Bidens pilosa* do grupo tratamento.

<i>B. pilosa</i> tratamento	Massa planta fresca (g)	Altura da planta (cm)	Largura média das folhas (cm)	Comprimento médio das folhas (cm)
<b>BT1</b>	41,49	68,6	2,6	5,7
<b>BT2</b>	30,41	43,3	3,3	6,6
<b>BT3</b>	27,35	42,0	2,7	6,4
<b>BT4</b>	37,83	44,5	3,7	8,3
<b>BT5</b>	57,68	52,0	3,4	7,6
<b>BT6</b>	17,73	45,7	2,8	6,4
<b>BT7</b>	11,07	29,5	3,4	7,4
<b>BT8</b>	21,34	57,0	2,4	5,9
<b>BT9</b>	48,12	59,0	3,2	7,5
<b>BT10</b>	33,97	51,0	3,2	7,0
<b>Média</b>	32,70	49,3	3,1	6,9
<b>DP</b>	14,23	10,8	0,4	0,8
<b>CV</b>	43,51	21,96	13,65	11,96

DP = desvio padrão

CV = coeficiente de variação

TABELA 4.3: Características morfológicas das amostras de *Salvia officinalis* do grupo controle.

<i>S. officinalis</i> controle	Massa planta fresca (g)	Largura média das folhas (cm)	Comprimento médio das folhas (cm)
<b>SC1</b>	6,65	1,4	4,6
<b>SC2</b>	13,58	1,9	5,1
<b>SC3</b>	13,23	2,1	5,8
<b>SC4</b>	10,91	1,9	6,6
<b>SC5</b>	19,68	2,2	6,4
<b>SC6</b>	10,49	1,8	4,4
<b>SC7</b>	9,65	1,5	4,6
<b>SC8</b>	10,86	1,7	5,4
<b>SC9</b>	11,46	1,7	4,9
<b>SC10</b>	12,13	1,8	6,5
<b>Média</b>	11,86	1,8	5,4
<b>DP</b>	3,37	0,2	0,8
<b>CV</b>	28,39	13,61	15,56

DP = desvio padrão

CV = coeficiente de variação

TABELA 4.4: Características morfológicas das amostras de *Salvia officinalis* do grupo tratamento.

<i>S. officinalis</i> tratamento	Massa planta fresca (g)	Largura média das folhas (cm)	Comprimento médio das folhas (cm)
ST1	15,69	1,8	5,8
ST2	16,05	1,8	6,0
ST3	10,56	2,2	5,6
ST4	12,06	2,4	6,3
ST5	12,04	1,6	4,7
ST6	14,66	1,9	6,3
ST7	12,65	2,4	5,8
ST8	14,55	2,0	5,8
ST9	10,16	1,6	5,0
ST10	7,72	1,2	3,9
Média	12,61	1,9	5,5
DP	2,67	0,4	0,8
CV	21,15	20,02	13,84

DP = desvio padrão

CV = coeficiente de variação

#### 4.2 Análise de pH do solo

As medidas de pH foram realizadas em triplicata com amostras de solo coletadas antes do plantio das mudas.

A determinação de pH de amostras do solo de *B. pilosa* revelou que ambos os grupos estudados apresentaram valores de pH próximos à neutralidade (TAB. 4.5). Para amostras de solo de *S. officinalis* fez-se avaliações de pH em duas situações devido ao não desenvolvimento das plantas na primeira tentativa de cultivá-las. Na primeira situação as análises foram feitas com o solo no qual as mudas morreram, enquanto que na segunda as análises foram realizadas no solo tratado com substrato para plantas adquirido em loja de jardinagem especializada. Na TAB. 4.5 estão apresentados os valores de pH obtidos nas duas situações.

TABELA 4.5: medidas de pH do solo.

<b>Primeira medida</b>			
<b>Amostra</b>		<b>pH</b>	
Solo Bidens Controle		7,09 – 7,15	
Solo Bidens Tratamento		7,12 – 7,19	

<b>Primeira medida</b>		<b>Segunda medida</b>	
<b>Amostra</b>		<b>pH</b>	
Solo Sálvia Controle		7,25 – 7,26	
Solo Sálvia Tratamento		6,77 – 6,81	
		<b>Amostra</b>	
		<b>pH</b>	
		Solo Sálvia Controle	
		5,89 – 6,10	
		Solo Sálvia Tratamento	
		5,75 – 5,87	

### 4.3 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental

Os elementos determinados, suas concentrações e incertezas obtidas após a análise das matrizes de solo, planta e extratos de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis* são mostrados a seguir.

Para *Bidens pilosa*, a técnica de INAA detectou a presença de Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn nas matrizes de solo e planta, enquanto que nos extratos aquoso e alcoólico, dos seis elementos citados, apenas o vanádio não foi determinado. Foram detectados ainda, nas matrizes de solo e planta os elementos: Ba, Br, Ca, Ce, Co, Cs, Eu, Hf, La, Lu, Na, Rb, Sc, Sm, Ta, Th, Yb e Zr. Nos extratos aquoso e alcoólico de *B. pilosa* foram detectados: Br, Ca, Co, Cs, Eu, Na, Rb e Sc.

Os resultados obtidos para as concentrações elementares de Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn referentes à *Bidens pilosa*, dos grupos controle e tratamento, são mostrados nas tabelas seguintes, que foram elaboradas conforme a matriz analisada: solo (TAB. 4.6), plantas (TAB. 4.7), extrato aquoso (TAB. 4.8) e extrato alcoólico (TAB. 4.9).

TABELA 4.6: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de solo de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por %.

	<b>Cr</b>	<b>Fe(%)</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>SBC-P</b>	59 $\pm$ 2	4,95 0,05	17715 $\pm$ 2241	193 $\pm$ 3	110 $\pm$ 4	142 $\pm$ 12
<b>SBC-1</b>	112 $\pm$ 3	4,89 $\pm$ 0,05	16028 $\pm$ 1440	158 $\pm$ 2	92 $\pm$ 7	110 $\pm$ 10
<b>SBC-2</b>	115 $\pm$ 3	4,51 $\pm$ 0,05	19842 $\pm$ 1470	153 $\pm$ 2	49 $\pm$ 2	122 $\pm$ 11
<b>SBC-3</b>	107 $\pm$ 3	4,32 $\pm$ 0,05	22871 $\pm$ 1541	148 $\pm$ 2	83 $\pm$ 3	104 $\pm$ 9
<b>SBC-4</b>	106 $\pm$ 3	4,97 $\pm$ 0,05	12111 $\pm$ 1231	164 $\pm$ 3	27 $\pm$ 3	ND
<b>SBC-5</b>	122 $\pm$ 3	5,43 $\pm$ 0,06	16392 $\pm$ 1400	177 $\pm$ 2	106 $\pm$ 7	188 $\pm$ 16
<b>Média</b>	112	4,82	17449	160	71	131
<b>DP</b>	7	0,43	4085	11	32	38
<b>CV</b>	6,08	8,99	23,41	6,90	45,46	29,3
<b>SBT-P</b>	55 $\pm$ 1	3,88 $\pm$ 0,04	16946 $\pm$ 1259	228 $\pm$ 3	24 $\pm$ 4	232 $\pm$ 6
<b>SBT-1</b>	121 $\pm$ 3	3,65 $\pm$ 0,04	14646 $\pm$ 1738	202 $\pm$ 2	95 $\pm$ 4	199 $\pm$ 5
<b>SBT-2</b>	109 $\pm$ 3	3,63 $\pm$ 0,04	12981 $\pm$ 1161	180 $\pm$ 2	92 $\pm$ 8	193 $\pm$ 5
<b>SBT-3</b>	113 $\pm$ 3	3,98 $\pm$ 0,04	12191 $\pm$ 443	158 $\pm$ 2	83 $\pm$ 4	219 $\pm$ 6
<b>SBT-4</b>	132 $\pm$ 3	3,97 $\pm$ 0,04	15608 $\pm$ 1787	188 $\pm$ 3	79 $\pm$ 2	210 $\pm$ 17
<b>SBT-5</b>	118 $\pm$ 3	3,65 $\pm$ 0,04	6262 $\pm$ 1069	182 $\pm$ 2	43 $\pm$ 5	221 $\pm$ 6
<b>Média</b>	119	3,78	12337	182	78	208
<b>DP</b>	9	0,18	3653	16	21	12
<b>CV</b>	7,43	4,86	29,61	8,78	26,86	5,87

DP = Desvio Padrão

CV = Coeficiente de Variação

ND = Valor não determinado

TABELA 4.7: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de plantas de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

	<b>Cr</b>	<b>Fe</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>BC-1</b>	3,1 $\pm$ 0,1	661 $\pm$ 9	2584 $\pm$ 229	21,6 $\pm$ 0,6	1,14 $\pm$ 0,29	52 $\pm$ 2
<b>BC-2</b>	3,0 $\pm$ 0,1	740 $\pm$ 10	2339 $\pm$ 183	20,4 $\pm$ 1,0	0,66 $\pm$ 0,02	63 $\pm$ 3
<b>BC-3</b>	3,3 $\pm$ 0,1	758 $\pm$ 11	3361 $\pm$ 311	21,1 $\pm$ 0,6	<LD	57 $\pm$ 3
<b>BC-4</b>	3,2 $\pm$ 0,1	834 $\pm$ 11	2142 $\pm$ 160	21,8 $\pm$ 0,4	1,82 $\pm$ 0,19	53 $\pm$ 3
<b>BC-5</b>	6,0 $\pm$ 0,2	808 $\pm$ 12	2433 $\pm$ 145	20,7 $\pm$ 0,5	1,01 $\pm$ 0,21	60 $\pm$ 3
<b>Média</b>	3,7	760	2572	21,1	1,16	57
<b>DP</b>	1,3	67	469	0,6	0,49	5
<b>CV</b>	34,25	8,82	18,25	2,88	42,18	7,92
<b>BT-1</b>	3,7 $\pm$ 0,2	1147 $\pm$ 16	3502 $\pm$ 166	24,5 $\pm$ 0,5	3,2 $\pm$ 0,2	44 $\pm$ 2
<b>BT-2</b>	4,0 $\pm$ 0,2	1977 $\pm$ 24	1683 $\pm$ 106	47,5 $\pm$ 1,0	1,8 $\pm$ 0,2	58 $\pm$ 3
<b>BT-3</b>	4,5 $\pm$ 0,2	2345 $\pm$ 27	3003 $\pm$ 275	39,1 $\pm$ 0,8	5,3 $\pm$ 0,8	56 $\pm$ 3
<b>BT-4</b>	4,3 $\pm$ 0,2	1476 $\pm$ 19	3128 $\pm$ 276	12,7 $\pm$ 0,7	3,2 $\pm$ 0,5	43 $\pm$ 2
<b>BT-5</b>	5,9 $\pm$ 0,3	2108 $\pm$ 25	2265 $\pm$ 224	28,4 $\pm$ 0,6	3,0 $\pm$ 0,4	52 $\pm$ 3
<b>Média</b>	4,5	1811	2716	30,4	3,3	51
<b>DP</b>	0,8	488	731	13,4	1,3	7
<b>CV</b>	18,47	26,97	26,93	44,11	38,55	13,97

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

TABELA 4.8: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

	<b>Cr</b>	<b>Fe</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>		
<b>EAqBC-1</b>	<LD	11,4 $\pm$ 0,7	973 $\pm$ 222	5,87 $\pm$ 0,08	<LD	25,7 $\pm$ 1,0		
<b>EAqBC-2</b>	<LD	2,8 $\pm$ 0,7	674 $\pm$ 73	1,76 $\pm$ 0,05	<LD	20,4 $\pm$ 0,8		
<b>EAqBC-3</b>	<LD	<LD	1345 $\pm$ 80	3,13 $\pm$ 0,07	<LD	20,3 $\pm$ 0,8		
<b>EAqBC-4</b>	<LD	4,4 $\pm$ 0,6	755 $\pm$ 65	4,34 $\pm$ 0,09	<LD	21,8 $\pm$ 0,9		
<b>EAqBC-5</b>	0,14 $\pm$ 0,02	3,7 $\pm$ 0,6	953 $\pm$ 48	3,26 $\pm$ 0,11	<LD	42,1 $\pm$ 1,7		
<b>Média</b>	0,14	5,6	940	3,67		26,1		
<b>DP</b>		4,0	260	1,53		9,3		
<b>CV</b>		70,74	27,65	41,77		35,52		
<b>EAqBT-1</b>	0,16 $\pm$ 0,02	3,4 $\pm$ 0,8	478	252	5,16	0,04	<LD	18,6 $\pm$ 0,9
<b>EAqBT-2</b>	0,08 $\pm$ 0,01	4,2 $\pm$ 0,5	1754	141	4,05	0,04	<LD	29,5 $\pm$ 1,4
<b>EAqBT-3</b>	0,06 $\pm$ 0,02	4,0 $\pm$ 0,6	1345	80	3,85	0,04	<LD	20,7 $\pm$ 1,0
<b>EAqBT-4</b>	0,13 $\pm$ 0,02	6,5 $\pm$ 0,6	1169	40	6,24	0,06	<LD	21,8 $\pm$ 1,0
<b>EAqBT-5</b>	0,12 $\pm$ 0,02	7,3 $\pm$ 0,6	1340	47	3,81	0,04	<LD	28,3 $\pm$ 1,3
<b>Média</b>	0,11	5,1	1217	4,62				23,8
<b>DP</b>	0,04	1,7	466	1,06				4,8
<b>CV</b>	36,55	34,11	38,28	22,85				20,30

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

TABELA 4.9: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de extrato alcoólico de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

	<b>Cr</b>	<b>Fe</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>EABC-1</b>	0,11 $\pm$ 0,01	2,2 $\pm$ 0,3	497 $\pm$ 47	2,63 $\pm$ 0,05	<LD	18,0 $\pm$ 0,8
<b>EABC-2</b>	0,07 $\pm$ 0,01	1,8 $\pm$ 0,3	444 $\pm$ 51	0,70 $\pm$ 0,03	<LD	19,9 $\pm$ 0,9
<b>EABC-3</b>	0,03 $\pm$ 0,01	1,6 $\pm$ 0,2	409 $\pm$ 36	0,89 $\pm$ 0,04	<LD	18,0 $\pm$ 0,8
<b>EABC-4</b>	0,14 $\pm$ 0,01	2,6 $\pm$ 0,4	360 $\pm$ 52	0,69 $\pm$ 0,04	<LD	16,7 $\pm$ 0,8
<b>EABC-5</b>	0,05 $\pm$ 0,01	1,2 $\pm$ 0,4	573 $\pm$ 35	0,81 $\pm$ 0,04	<LD	22,0 $\pm$ 1,0
<b>Média</b>	0,08	1,9	457	1,14		18,9
<b>DP</b>	0,04	0,5	82	0,83		2,1
<b>CV</b>	52,55	28,34	18,03	72,93		11,01
<b>EABT-1</b>	0,06 $\pm$ 0,01	2,4 $\pm$ 0,4	441 $\pm$ 43	1,21 $\pm$ 0,03	<LD	28 $\pm$ 2
<b>EABT-2</b>	0,07 $\pm$ 0,01	1,5 $\pm$ 0,3	640 $\pm$ 57	0,96 $\pm$ 0,04	<LD	28 $\pm$ 2
<b>EABT-3</b>	0,09 $\pm$ 0,01	2,6 $\pm$ 0,3	507 $\pm$ 37	1,07 $\pm$ 0,04	<LD	31 $\pm$ 2
<b>EABT-4</b>	0,08 $\pm$ 0,01	2,0 $\pm$ 0,3	535 $\pm$ 56	1,02 $\pm$ 0,03	<LD	29 $\pm$ 2
<b>EABT-5</b>	0,07 $\pm$ 0,01	2,2 $\pm$ 0,3	335 $\pm$ 28	0,81 $\pm$ 0,03	<LD	25 $\pm$ 1
<b>Média</b>	0,07	2,1	492	1,01		28
<b>DP</b>	0,01	0,4	113	0,15		2
<b>CV</b>	18,97	20,35	23,04	14,56		7,21

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = limite de detecção

No APÊNDICE A são mostrados os demais elementos determinados, suas concentrações e incertezas, nas amostras de solo, planta e extratos referentes à *Bidens pilosa*, por meio da técnica de INAA.

Para *Salvia officinalis* detectou-se a presença de Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn nas amostras de solo e planta, enquanto que nos extratos o ferro e o vanádio não foram determinados. Por meio da técnica de INAA, também foram detectados em matrizes de solo e planta os elementos: Ba, Br, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Mg, Mn, Na, Rb, Sc, Sm, Th, V, Yb e Zn. Nos extratos foram determinados os elementos: Br, Ca, Co, Cs, Eu, Na, Rb e Sc.

Os elementos Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn, suas concentrações e incertezas, para *S. officinalis* dos grupos controle e tratamento, são apresentados nas TAB. 4.10, 4.11, 4.12 e 4.13 nas amostras de solo, planta, extrato aquoso e extrato alcoólico, respectivamente.

TABELA 4.10: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de solo de *S. officinalis* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por %.

	<b>Cr</b>	<b>Fe(%)</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>SSC-P</b>	63 $\pm$ 1	2,77 $\pm$ 0,02	14017 $\pm$ 1254	184 $\pm$ 5	101 $\pm$ 10	217 $\pm$ 9
<b>SSC-1</b>	94 $\pm$ 2	3,17 $\pm$ 0,03	14674 $\pm$ 1295	237 $\pm$ 6	128 $\pm$ 11	298 $\pm$ 12
<b>SSC-2</b>	114 $\pm$ 2	3,36 $\pm$ 0,03	17830 $\pm$ 1394	190 $\pm$ 3	120 $\pm$ 11	240 $\pm$ 10
<b>SSC-3</b>	98 $\pm$ 2	3,12 $\pm$ 0,03	18931 $\pm$ 1524	236 $\pm$ 4	131 $\pm$ 11	301 $\pm$ 12
<b>SSC-4</b>	127 $\pm$ 3	2,62 $\pm$ 0,02	20295 $\pm$ 1584	270 $\pm$ 5	97 $\pm$ 7	255 $\pm$ 10
<b>SSC-5</b>	94 $\pm$ 2	2,87 $\pm$ 0,02	11858 $\pm$ 1472	177 $\pm$ 4	79 $\pm$ 5	298 $\pm$ 12
<b>Média</b>	106	3,03	16717	222	111	278
<b>DP</b>	14	0,29	3418	38	22	29
<b>CV</b>	13,72	9,52	20,44	17,10	20,18	10,33
<b>SST-P</b>	65 $\pm$ 2	3,10 $\pm$ 0,03	13878 $\pm$ 1161	196 $\pm$ 5	114 $\pm$ 11	159 $\pm$ 7
<b>SST-1</b>	78 $\pm$ 3	2,48 $\pm$ 0,03	15330 $\pm$ 1171	171 $\pm$ 5	84 $\pm$ 8	171 $\pm$ 7
<b>SST-2</b>	89 $\pm$ 3	2,72 $\pm$ 0,03	16832 $\pm$ 1276	173 $\pm$ 3	113 $\pm$ 11	148 $\pm$ 6
<b>SST-3</b>	98 $\pm$ 3	2,73 $\pm$ 0,03	16494 $\pm$ 1381	158 $\pm$ 3	94 $\pm$ 8	166 $\pm$ 7
<b>SST-4</b>	107 $\pm$ 4	3,15 $\pm$ 0,03	13097 $\pm$ 1180	167 $\pm$ 3	90 $\pm$ 7	175 $\pm$ 8
<b>SST-5</b>	99 $\pm$ 3	2,89 $\pm$ 0,03	9045 $\pm$ 2422	166 $\pm$ 4	81 $\pm$ 6	183 $\pm$ 8
<b>Média</b>	94	2,79	14159	167	92	169
<b>DP</b>	11	0,25	3211	6	13	13
<b>CV</b>	11,79	8,94	22,68	3,52	13,81	7,73

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação



TABELA 4.11: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de plantas de *S. officinalis* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

	<b>Cr</b>	<b>Fe</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>SC-1</b>	4,6 ±0,2	1379 ±15	5926 ±332	45,6 ±0,7	4,1 ±0,8	240 ±11
<b>SC-2</b>	2,6 ±0,2	725 ±9	7124 ±567	24,3 ±0,6	2,8 ±0,4	215 ±10
<b>SC-3</b>	1,6 ±0,1	582 ±8	4547 ±258	27,0 ±0,5	<LD	225 ±10
<b>SC-4</b>	1,9 ±0,1	561 ±8	7483 ±329	37,2 ±0,7	1,7 ±0,3	230 ±10
<b>SC-5</b>	1,6 ±0,1	466 ±7	5089 ±293	26,3 ±1,0	1,0 ±0,3	220 ±10
<b>Média</b>	2,5	743	6034	32,1	2,4	226
<b>DP</b>	0,5	367	1265	9,1	1,4	10
<b>CV</b>	23,89	49,46	20,97	28,36	57,12	4,23
<b>ST-1</b>	2,3 ±0,1	488 ±6	3756 ±253	20,9 ±0,5	0,8 ±0,5	288 ±9
<b>ST-2</b>	2,6 ±0,1	500 ±6	4678 ±442	27,3 ±0,7	<LD	291 ±10
<b>ST-3</b>	2,8 ±0,1	531 ±6	3482 ±235	22,2 ±0,5	<LD	276 ±9
<b>ST-4</b>	2,7 ±0,1	441 ±6	3805 ±254	22,4 ±0,5	<LD	243 ±8
<b>ST-5</b>	2,0 ±0,1	559 ±7	2930 ±248	25,9 ±0,9	1,8 ±0,4	223 ±7
<b>Média</b>	2,5	504	3730	23,7	1,3	264
<b>DP</b>	0,3	45	634	2,7	0,6	30
<b>CV</b>	12,28	8,90	16,99	11,47	49,39	11,19

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

TABELA 4.12: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de extrato aquoso de *S. officinalis* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

	<b>Cr</b>	<b>Fe</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>EAqSC-1</b>	0,09 $\pm$ 0,02	<LD	1595 $\pm$ 144	3,0 $\pm$ 0,1	<LD	27 $\pm$ 1
<b>EAqSC-2</b>	<LD	<LD	1923 $\pm$ 107	5,5 $\pm$ 0,1	<LD	29 $\pm$ 1
<b>EAqSC-3</b>	0,09 $\pm$ 0,02	<LD	1902 $\pm$ 91	4,9 $\pm$ 0,1	<LD	27 $\pm$ 1
<b>EAqSC-4</b>	0,10 $\pm$ 0,02	<LD	2102 $\pm$ 117	7,1 $\pm$ 0,1	<LD	28 $\pm$ 1
<b>EAqSC-5</b>	0,12 $\pm$ 0,02	<LD	2530 $\pm$ 114	7,0 $\pm$ 0,1	<LD	24 $\pm$ 1
<b>Média</b>	0,10		2010	5,5		27
<b>DP</b>	0,01		343	1,7		2
<b>CV</b>	12,62		17,07	30,33		6,36
<b>EAqST-1</b>	0,15 $\pm$ 0,03	<LD	1380 $\pm$ 133	4,47 $\pm$ 0,08	<LD	25 $\pm$ 1
<b>EAqST-2</b>	<LD	<LD	658 $\pm$ 118	3,25 $\pm$ 0,07	<LD	26 $\pm$ 1
<b>EAqST-3</b>	0,17 $\pm$ 0,04	<LD	1512 $\pm$ 83	3,15 $\pm$ 0,05	<LD	25 $\pm$ 1
<b>EAqST-4</b>	0,15 $\pm$ 0,03	<LD	1110 $\pm$ 63	2,71 $\pm$ 0,05	<LD	33 $\pm$ 1
<b>EAqST-5</b>	0,14 $\pm$ 0,03	<LD	2186 $\pm$ 98	4,34 $\pm$ 0,07	<LD	30 $\pm$ 1
<b>Média</b>	0,15		1369	3,58		28
<b>DP</b>	0,01		561	0,78		3
<b>CV</b>	8,40		40,98	21,71		12,40

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

TABELA 4.13: Concentrações e incertezas de elementos determinados nas amostras de extrato alcoólico de *S. officinalis* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

	<b>Cr</b>	<b>Fe</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
<b>EASC-1</b>	<LD	<LD	694 ±34	0,67 ±0,03	<LD	21 ±1
<b>EASC-2</b>	0,12 ±0,02	<LD	594 ±31	0,86 ±0,02	<LD	22 ±1
<b>EASC-3</b>	<LD	<LD	847 ±51	0,74 ±0,02	<LD	22 ±1
<b>EASC-4</b>	<LD	<LD	396 ±34	0,68 ±0,04	<LD	19 ±1
<b>EASC-5</b>	0,10 ±0,03	<LD	483 ±37	0,86 ±0,03	<LD	26 ±1
<b>Média</b>	0,11		603	0,76		22
<b>DP</b>	0,02		177	0,09		3
<b>CV</b>	17,16		29,34	11,85		11,36
<b>EAST-1</b>	<LD	<LD	563 ±35	0,78 ±0,02	<LD	19,8 ±0,8
<b>EAST-2</b>	<LD	<LD	309 ±23	0,38 ±0,02	<LD	17,0 ±0,7
<b>EAST-3</b>	<LD	<LD	544 ±43	0,53 ±0,02	<LD	16,5 ±0,6
<b>EAST-4</b>	<LD	<LD	751 ±63	0,58 ±0,02	<LD	17,1 ±0,7
<b>EAST-5</b>	0,07 ±0,02	<LD	238 ±32	0,34 ±0,02	<LD	15,8 ±0,6
<b>Média</b>	0,07		481	0,52		17,2
<b>DP</b>			208	0,17		1,5
<b>CV</b>			43,21	33,57		8,86

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

No APÊNDICE B são mostrados todos os elementos, suas concentrações e incertezas, determinados nas amostras de solo, planta e extratos referentes à *Salvia officinalis*, por meio da técnica de INAA.

#### 4.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Os compostos (ácido clorogênico, ácido rosmarínico e vitexina) foram determinados nos extratos por meio da comparação de seus tempos de retenção com os de padrões comerciais da marca Sigma®.

Na TAB. 4.14 são mostrados o tempo de retenção dos padrões utilizados como referência e o comprimento de onda de detecção. Nas FIG. 4.3 e 4.4 são apresentados exemplos de cromatogramas dos padrões dos compostos analisados sobrepostos aos dos

extratos. A FIG 4.3 se refere aos cromatogramas do extrato de *B. pilosa* e do padrão do ácido clorogênico. Já a FIG. 4.4 se refere aos cromatogramas do extrato de *S. officinalis*, do padrão de vitexina e do padrão de ácido rosmarínico.

TABELA 4.14: Tempos de retenção dos padrões comerciais analisados por HPLC e comprimento de onda de detecção.

Metabólitos Secundários	Tempo de Retenção (minutos)	Comprimento de onda máximo (nm)
Ácido clorogênico	4,285	
Ácido rosmarínico	20,265	352
Vitexina	13,632	

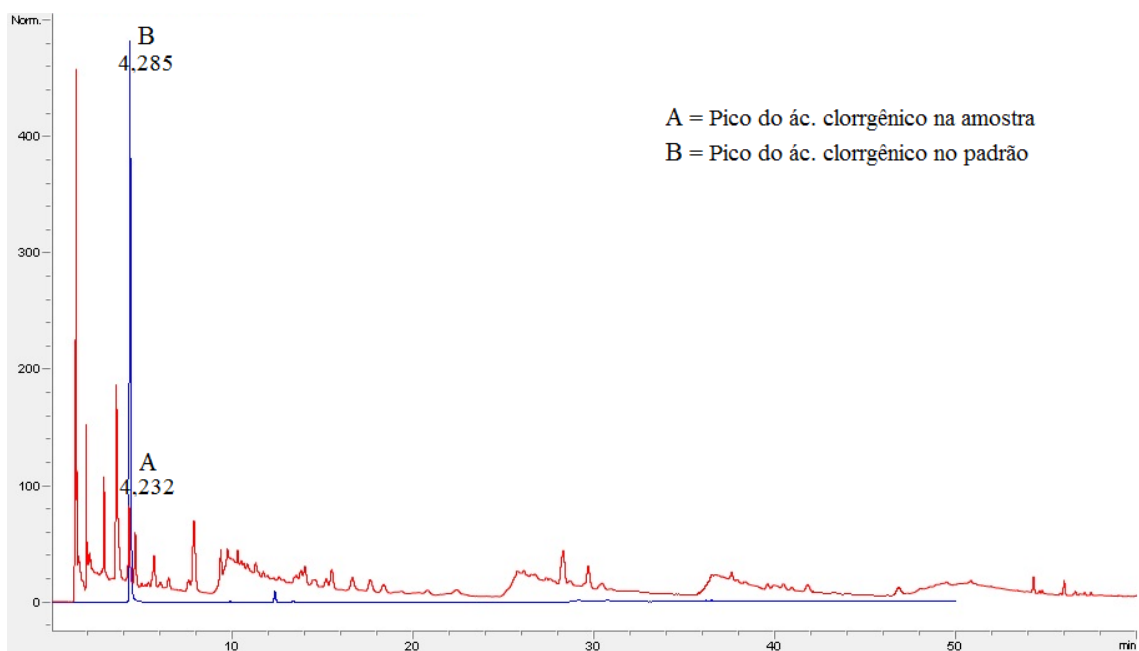


FIGURA 4.3: Cromatogramas identificando o ácido clorogênico no extrato de *B. pilosa* (linha vermelha) e no padrão utilizado como referência (linha azul). As concentrações foram obtidas em unidade de miliabsorbância (mAU)

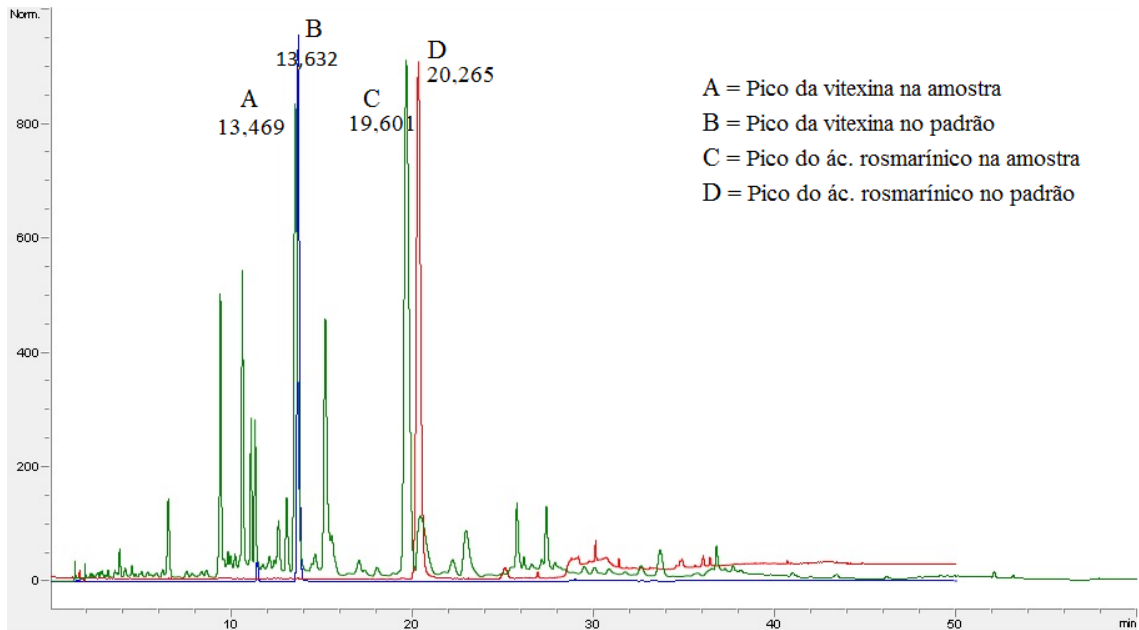


FIGURA 4.4: Cromatogramas identificando a vitexina e o ácido rosmarínico. Os cromatogramas das linhas verde, azul e vermelha se referem, respectivamente, ao extrato de *S. officinalis*, padrão de vitexina e padrão de ác. rosmarínico. As concentrações foram obtidas em unidade de miliabsorbância (mAU)

Nas TAB. 4.15 e 4.16 estão presentes, respectivamente, os dados referentes aos extratos aquosos e alcoólicos da espécie *B. pilosa*. Nas TAB. 4.17 e 4.18 são mostrados, respectivamente, os dados referentes aos extratos aquosos e alcoólicos da espécie *S. officinalis*.

TABELA 4.15: Resultados obtidos para a área do pico de absorvância, em mAU (unidade de miliabsorvância), do ácido clorogênico nos extratos aquosos de *B. pilosa*.

Amostra	Metabólitos secundários
	Ácido clorogênico (mAU)
EAqBC1	91,6
EAqBC2	206,6
EAqBC3	139,7
EAqBC4	136,4
EAqBC5	188,2
Média	152,5
DP	45,6
CV	29,9
EAqBT1	80,6
EAqBT2	77,4
EAqBT3	37,8
EAqBT4	58,3
EAqBT5	67,3
Média	64,3
DP	17,2
CV	26,8

TABELA 4.16: Resultados obtidos para a área do pico de absorvância, em mAU (unidade de miliabsorvância), do ácido clorogênico nos extratos alcoólicos de *B. pilosa*.

Amostra	Metabólitos secundários
	Ácido clorogênico (mAU)
EABC1	44,5
EABC2	88,9
EABC3	54,0
EABC4	45,5
EABC5	108,5
Média	68,3
DP	28,9
CV	42,3
EABT1	37,3
EABT2	28,1
EABT3	81,1
EABT4	64,7
EABT5	34,0
Média	49,0
DP	22,8
CV	46,5

TABELA 4.17: Resultados obtidos para as áreas dos picos de absorvância, em mAU (unidade de miliabsorvância), do ácido rosmarínico e da Vitexina nos extratos aquosos de *S. officinalis*.

Amostra	Metabólitos secundários	
	Ácido rosmarínico (mAU)	Vitexina (mAU)
EAqSC1	259,9	358,3
EAqSC2	646,6	6874,0
EAqSC3	12141,3	4918,3
EAqSC4	10647,5	6819,1
EAqSC5	2898,1	3208,2
média	5318,7	4435,6
DP	5661,8	2738,2
CV	106,5	61,7
EAqST1	9685,7	6413,0
EAqST2	3657,6	4901,3
EAqST3	629,5	3134,3
EAqST4	14841,0	7692,8
EAqST5	12324,9	6440,8
média	8227,7	5716,5
DP	5942,8	1749,9
CV	72,2	30,6



TABELA 4.18: Resultados obtidos para as áreas dos picos de absorvância, em mAU (unidade de miliabsorvância), do ácido rosmarínico e da vitexina nos extratos alcoólicos de *S. officinalis*.

Amostra	Metabólitos secundários	
	Ácido rosmarínico (mAU)	Vitexina (mAU)
EASC1	613,4	3803,0
EASC2	528,0	2799,4
EASC3	1085,4	2860,4
EASC4	694,8	4113,2
EASC5	2268,3	3590,2
Média	1038,0	3433,3
DP	720,1	581,7
CV	69,4	16,9
EAST1	1568,8	5368,8
EAST2	779,6	4952,9
EAST3	156,7	5770,3
EAST4	1122,1	6629,1
EAST5	259,2	4281,7
Média	777,3	5400,6
DP	591,4	880,2
CV	76,1	16,3

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Cultivo das plantas

As condições de cultivo empregadas para *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis* geraram amostras viáveis para a execução das análises.

A análise estatística das características físicas das plantas revelou que para a espécie *Bidens pilosa* as massas da planta fresca das amostras do grupo tratamento foram, em média, um pouco mais elevadas que das amostras do grupo controle, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ( $p > 0,05$ ). No quesito altura das plantas, os valores das amostras do grupo controle foram, em média, superiores aos do tratamento e o teste-t indicou que os grupos são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Quanto às características das folhas, foi observado que tanto para a largura como para o comprimento, os valores foram, em média, mais elevados para as amostras tratadas com a solução de nutrientes e o teste-t indicou que os grupos são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

As diferenças nas características físicas observadas entre amostras de *Bidens pilosa* dos grupos controle e tratamento são baseadas apenas na adição da solução de micronutrientes às amostras do grupo tratamento, pois esta foi a única variável alterada neste estudo. O macronutriente Mg e os micronutrientes Fe e Zn, adicionados às amostras de *B. pilosa* do grupo tratamento, são considerados essenciais e podem ter favorecido a formação de plantas com rendimento de biomassa maior.

Comparando-se as características físicas de *S. officinalis*, notou-se que não houve diferença estatisticamente significativa para nenhum dos quesitos avaliados ( $p > 0,05$ ).

No APÊNDICE C é possível verificar como estão dispersos os valores referentes à massa e altura das plantas, e comprimento e largura das folhas, medidos em amostras de *B. pilosa* e *S. officinalis* nos dois grupos estudados

### 5.2 pH do solo

Os pHs em torno da neutralidade verificados para os solos dos canteiros dos grupos controle e tratamento para *Bidens pilosa* foram suficientemente eficazes para o desenvolvimento das plantas. Obara e Alves (1990) verificaram que plantas que se

desenvolveram em pH 6,5 e 7,0 se mostraram mais altas e com volume radicular maior do que as plantas cultivadas em pH 4,0 a 6,0. Em um estudo que visou avaliar a tolerância de *Bidens pilosa* a diferentes níveis de pH, utilizando-se técnica de hidroponia, observou-se que a planta apresentou melhor desenvolvimento em pHs próximo ao neutro, sendo o valor de pH 6,0 o melhor apontado pela análise de regressão. Este estudo mostrou ainda que o teor de Mg aumentou nas raízes e no caule conforme o aumento do pH (Obara et al., 1994).

Para *Salvia officinalis* acredita-se que os valores pH próximos da neutralidade verificados nos solos utilizados na primeira tentativa de cultivo, podem ter contribuído para o não desenvolvimento das plantas. Na segunda situação de cultivo, em que se utilizou solo tratado com substrato para plantas, foram geradas amostras de ervas viáveis para as análises. O pH mais ácido encontrado na segunda medida pode ser um dos fatores que conduziu ao sucesso na produção das plantas. Não foram encontrados, na literatura, trabalhos referentes ao desenvolvimento de *S. officinalis* em substratos com pH em torno de 7,0, mas foi verificado em um estudo realizado por Ilkiu-Vidal et al. (2010) que em pH de 5,46; 5,72; 6,00 e 6,36, houve aumento significativo da área foliar, massa seca das folhas e da parte aérea das plantas em 52,2%, 60,5% e 42,4% respectivamente quando comparadas ao cultivo em pH abaixo de 5,0.

### 5.3 Análise por Ativação Neutrônica Instrumental

Como descrito anteriormente, um dos propósitos deste trabalho foi estudar os elementos Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn em *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis*. Desta forma, a comparação dos resultados entre amostras dos grupos controle e tratamento é mostrada a seguir.

De modo geral, tanto para as amostras referentes à *Bidens pilosa* quanto para as de *S. officinalis*, observou-se a mesma ordem de grandeza numérica para as concentrações elementares conforme a matriz (solo, planta ou extratos) que está sendo avaliada.

Analisando as amostras referentes à *Bidens pilosa* foi possível verificar que Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn foram determinados em todas as amostras de solo e na maioria das amostras de planta. Nos extratos, aquoso e alcoólico, o vanádio não foi determinado em nenhuma das amostras.

Para *S. officinalis* foram determinadas as concentrações dos elementos Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn em todas as amostras de solo. Na planta verificou-se que o vanádio foi determinado apenas em algumas amostras. Já nos extratos, verificou-se que o Cr foi identificado em um número maior de amostras do extrato aquoso do que em amostras do

extrato alcoólico. Ainda com relação aos extratos de sálvia, tem-se que não foram determinadas concentrações de Fe e V.

A comparação entre as concentrações de Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn nos grupos controle e tratamento nas amostras foi feita por meio de teste-t com variáveis independentes e, para melhor visualizar os resultados, foram utilizados gráficos do tipo boxplot que indicam como os valores estão dispersos entre as amostras. Os boxplots utilizados nesse trabalho são constituídos pelo valor mínimo, primeiro quartil, mediana, média, terceiro quartil, valor máximo e *outlier*. O gráfico é formado por uma caixa paralela ao eixo contendo os dados, que descreve 50% dos dados centrais da distribuição. O limite inferior da caixa representa o primeiro quartil e o superior o terceiro quartil. A linha traçada no interior da caixa representa a mediana e o ponto vermelho a média dos valores. As linhas externas paralelas às caixas representam os valores mínimo (abaixo da caixa) e máximo (acima da caixa), enquanto o círculo preto representa os *outliers*.

Nos boxplots das FIG. 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5 e 5.6 são mostradas as dispersões dos valores nas amostras de solos referentes à *Bidens pilosa* e *S. officinalis*. Nota-se que nestas amostras, de forma geral, as maiores concentrações foram encontradas para Fe e Mg, seguidos por Zn e Mn, e posteriormente por Cr e V.

Comparando os boxplots da FIG. 5.1, nota-se que amostras de solo de *B. pilosa* do grupo tratamento apresentaram concentrações médias de Cr mais elevadas do que amostras do grupo controle. Já para *S. officinalis*, as concentrações deste elemento se mostraram mais dispersas e com maior média nas amostras do grupo controle. No entanto, a comparação feita por meio de teste-t revelou que as concentrações de Cr em amostras de solo dos grupos controle e tratamento não são estatisticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) para nenhuma das espécies.

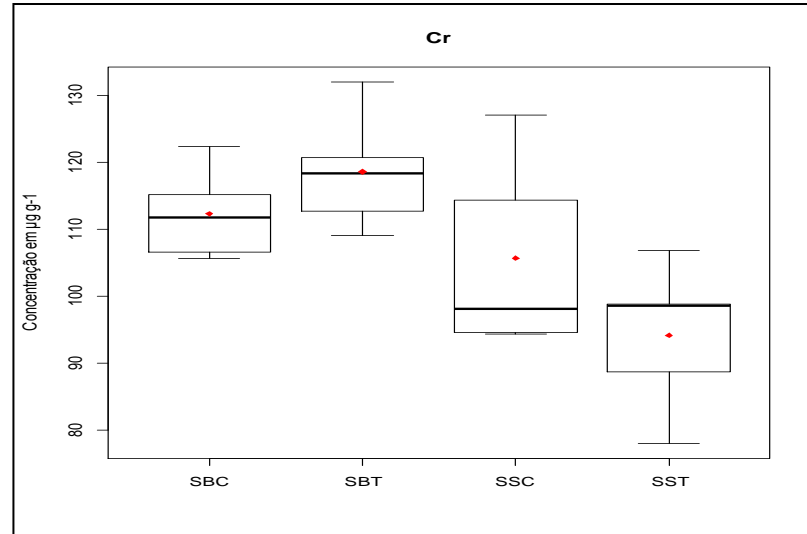


FIGURA 5.1: Dispersão das concentrações de Cr nas amostras de solo de *B. pilosa* e *S. officinalis*. SB = Solo Bidens; SS = Solo Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Com relação às concentrações de Fe nas amostras de solo, observa-se que a média dos valores foi maior no grupo controle para *Bidens pilosa*, e para *S. officinalis*, nota-se que a média dos valores foi ligeiramente mais elevada também no grupo controle (FIG. 5.2). O teste-t indicou que houve diferença estatisticamente significativa apenas entre amostras de solo referentes à *B. pilosa* ( $p < 0,05$ ).

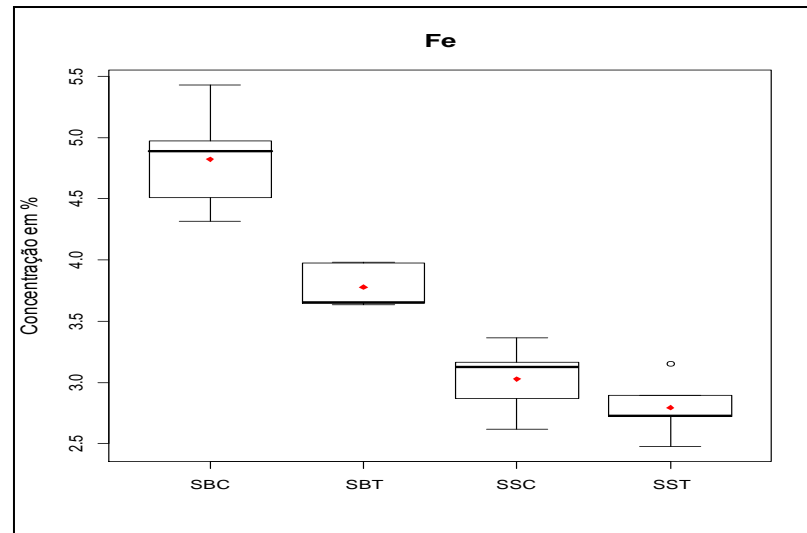


FIGURA 5.2: Dispersão das concentrações de Fe nas amostras de solo de *B. pilosa* e *S. officinalis*. SB = Solo Bidens; SS = Solo Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Pelos boxplots mostrados na FIG. 5.3, nota-se que os valores de Mg nas amostras de solo de *B. pilosa* do grupo controle foram, em média, mais elevados e

apresentaram maior dispersão de suas concentrações do que os valores encontrados no grupo tratamento. Para o solo de *S. officinalis*, nota-se que as concentrações de Mg foram ligeiramente mais elevadas nas amostras de solo do grupo controle. O teste-t indicou que tanto os solos de *B. pilosa* quanto de *S. officinalis* não são diferentes estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

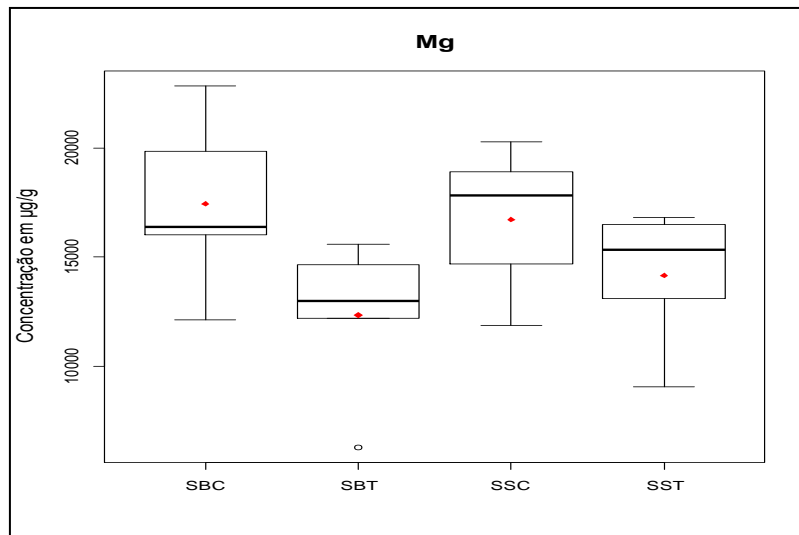


FIGURA 5.3: Dispersão das concentrações de Mg nas amostras de solo de *B. pilosa* e *S. officinalis*. SB = Solo Bidens; SS = Solo Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Analisando os boxplots da FIG. 5.4, nota-se, para o solo de *B. pilosa*, que a concentração média de Mn foi mais elevada nas amostras do grupo tratamento do que no outro grupo. Para *S. officinalis*, no entanto, tem-se que os valores obtidos no grupo controle foram, em média, mais elevados e com maior dispersão. Para os valores deste elemento, o teste-t indicou que houve diferença estatisticamente significativa para amostras do solo de *B. pilosa* e *S. officinalis* ( $p < 0,05$ ).

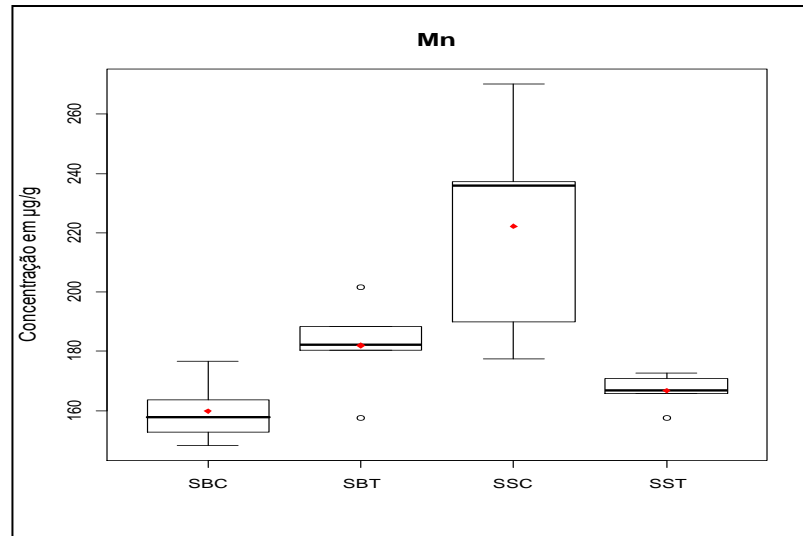


FIGURA 5.4: Dispersão das concentrações de Mn nas amostras de solo de *B. pilosa* e *S. officinalis*. SB = Solo Bidens; SS = Solo Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Analisando os resultados mostrados nos boxplots da FIG. 5.5, observa-se que a concentração média de V nas amostras de solo de *B. pilosa* foi menor, e que os valores estão dispersos em uma faixa de concentração maior nas amostras do grupo controle em relação ao tratamento. Para a *S. officinalis*, percebe-se que a média dos valores foi maior nas amostras do grupo controle do que no tratamento. Quando se compara a concentração de V, o teste-t indicou que não houve diferença estatística entre o solo dos grupos controle e tratamento ( $p > 0,05$ ) para nenhuma das espécies estudadas.

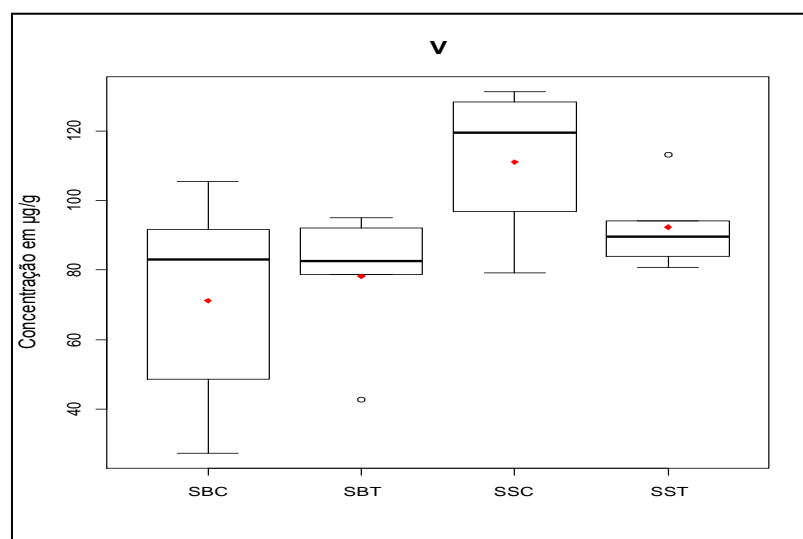


FIGURA 5.5: Dispersão das concentrações de V nas amostras de solo de *B. pilosa* e *S. officinalis*. SB = Solo Bidens; SS = Solo Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Nos boxplots da FIG. 5.6 é indicado que a média das concentrações de Zn foi mais elevada nas amostras de solo do grupo tratamento do que no controle para *B. pilosa*. Já nas amostras de solo referentes à *S. officinalis*, nota-se que a média das concentrações de Zn foi mais elevada nas amostras do grupo controle. O teste-t indicou que as amostras de solo de ambas as espécies apresentam concentrações deste elemento que são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

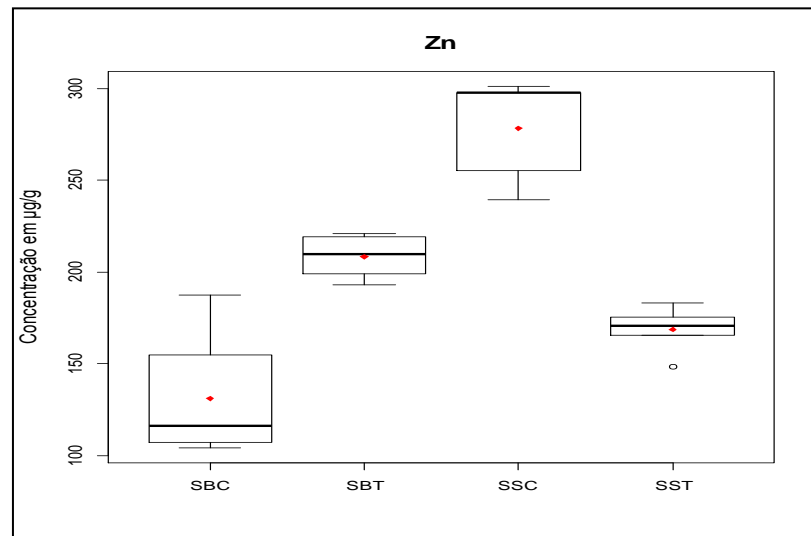


FIGURA 5.6: Dispersão das concentrações de Zn nas amostras de solo de *B. pilosa* e *S. officinalis*. SB = Solo Bidens; SS = Solo Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Nos boxplots das FIG. 5.7, 5.8, 5.9, 5.10, 5.11 e 5.12 são mostradas as dispersões dos valores de Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn respectivamente, nas amostras de plantas referentes à *Bidens pilosa* e *S. officinalis*. Nestas amostras, as concentrações mais elevadas foram verificadas para Mg, seguido, em ordem decrescente, por Fe, Zn, Mn, Cr e V.

Analisando-se os boxplots da FIG. 5.7, nota-se que a média das concentrações de Cr foi maior nas amostras de *Bidens pilosa* tratadas com a solução de nutrientes, já nas amostras de *S. officinalis*, percebe-se que, no grupo controle, os valores foram mais dispersos e ligeiramente inferiores àqueles encontrados no grupo tratamento (FIG. 5.7). A comparação feita por meio de teste-t revelou que as concentrações de Cr são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) apenas nas amostras de planta referentes à *B. pilosa*.



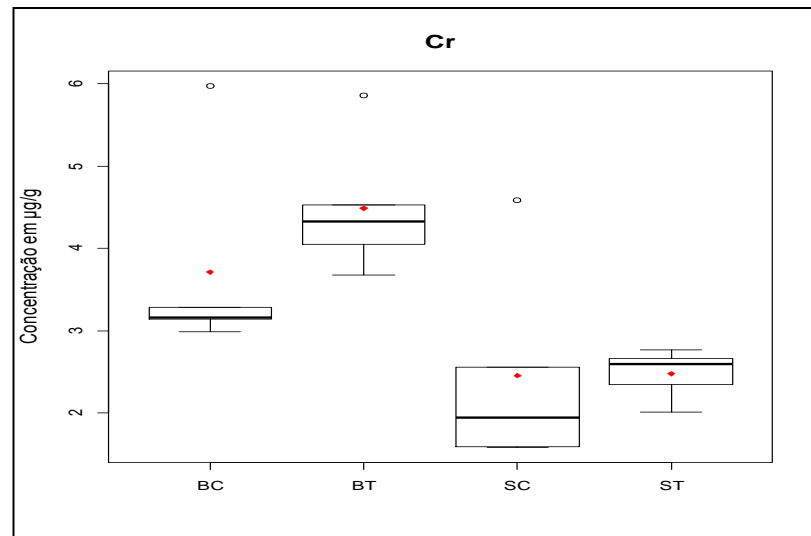


FIGURA 5.7: Dispersão das concentrações de Cr nas amostras de planta de *B. pilosa* e *S. officinalis*. B = Bidens; S = Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Comparando os resultados mostrados nos boxplots da FIG. 5.8, observa-se que as concentrações de Fe em *B. pilosa* apresentam uma grande dispersão nas amostras do grupo tratamento. Nota-se, ainda, que a média dos valores encontrados neste grupo foi maior que aquela encontrada nas amostras do grupo controle. Para sálvia, observa-se que a media das concentrações de Fe foi mais elevada nas amostras do grupo controle. Para os valores do elemento Fe, o teste-t indicou que houve diferença estatisticamente significativa apenas para amostras de *B. pilosa* ( $p < 0,05$ ).

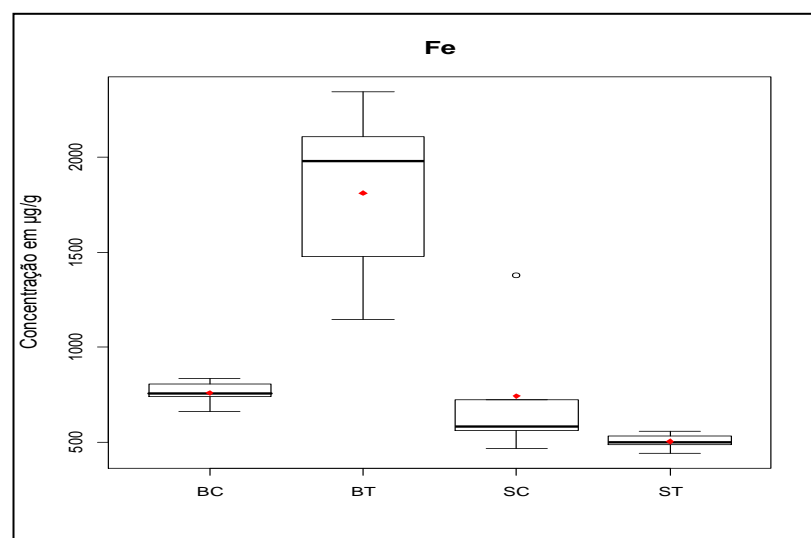


FIGURA 5.8: Dispersão das concentrações de Fe nas amostras de planta de *B. pilosa* e *S. officinalis*. B = Bidens; S = Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Analisando os boxplots da FIG. 5.9 é possível observar que, para *B. pilosa*, os valores de Mg se encontraram na mesma faixa de concentração quando comparados os grupos controle e tratamento. Entre amostras de *S. officinalis*, nota-se que a média das concentrações deste elemento foi mais elevada e os valores mais dispersos nas amostras do grupo controle. O teste-t revelou que são estatisticamente diferentes apenas os valores de Mg referentes às amostras de *S. officinalis* ( $p < 0,05$ ).

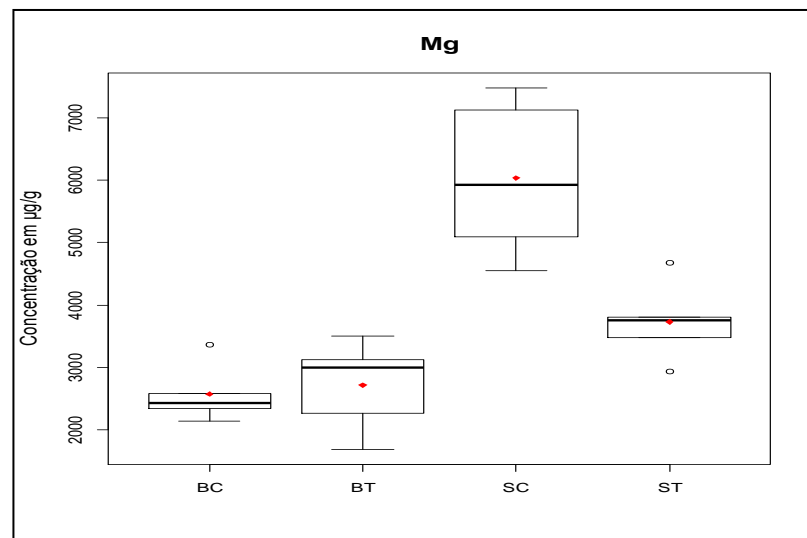


FIGURA 5.9: Dispersão das concentrações de Mg nas amostras de planta de *B. pilosa* e *S. officinalis*. B = Bidens; S = Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Nos boxplots da FIG. 5.10, nota-se que os valores de Mn apresentaram dispersão em uma ampla faixa de concentração nas amostras de *B. pilosa* do grupo tratamento e foram, em média, mais elevados do que os valores encontrados nas amostras do grupo controle. Já para as amostras de *S. officinalis*, foi observado o oposto, sendo, a média das concentrações, mais elevadas nas amostras do grupo controle. O teste-t aplicado aos valores de Mn determinados nas amostras de plantas revelou que não houve diferença estatisticamente significativa para nenhuma das espécies estudadas ( $p > 0,05$ ).

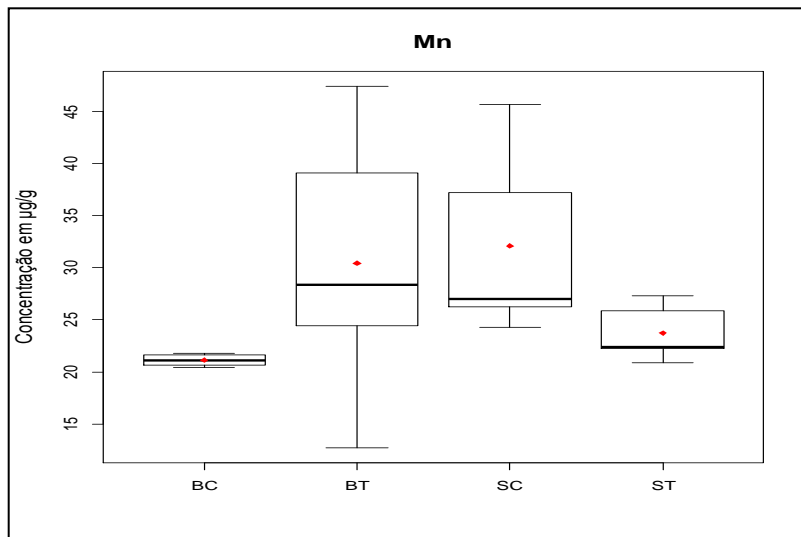


FIGURA 5.10: Dispersão das concentrações de Mn nas amostras de planta de *B. pilosa* e *S. officinalis*. B = Bidens; S = Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Na FIG. 5.11, referente às concentrações de V, nota-se pelos boxplots mostrados que para *B. pilosa*, os valores estão amplamente dispersos nas amostras do grupo tratamento e, em média, foram mais elevados que os valores encontrados no grupo controle. Nas amostras de planta da espécie *S. officinalis* não foi possível fazer comparações visto que este elemento foi determinado em apenas duas amostras do grupo tratamento, mas é possível notar que, nas amostras do grupo controle, os valores estão dispersos de forma ampla. A comparação feita por meio de teste-t revelou que as concentrações de V são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) nas amostras de *B. pilosa*.

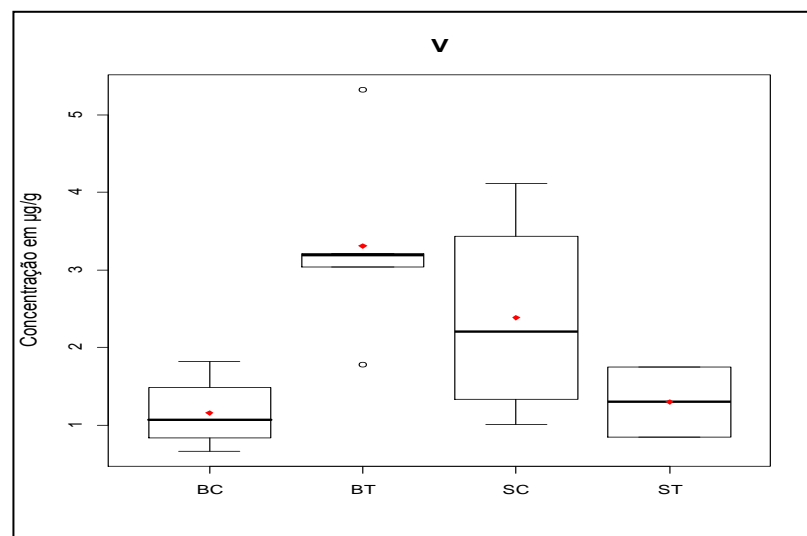


FIGURA 5.11: Dispersão das concentrações de V nas amostras de planta de *B. pilosa* e *S. officinalis*. B = Bidens; S = Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Os valores de Zn (FIG. 5.12) se mostraram na mesma faixa de concentração entre as amostras de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento, porém, quando analisadas

as plantas da espécie *S. officinalis*, nota-se que a média das concentrações deste elemento foi mais elevada nas amostras do grupo tratamento. O teste-t, utilizado para comparar as concentrações de Zn encontradas em amostras de plantas dos grupos controle e tratamento, indicou que são diferentes estatisticamente apenas os valores referentes à *S. officinalis* ( $p < 0,05$ ).

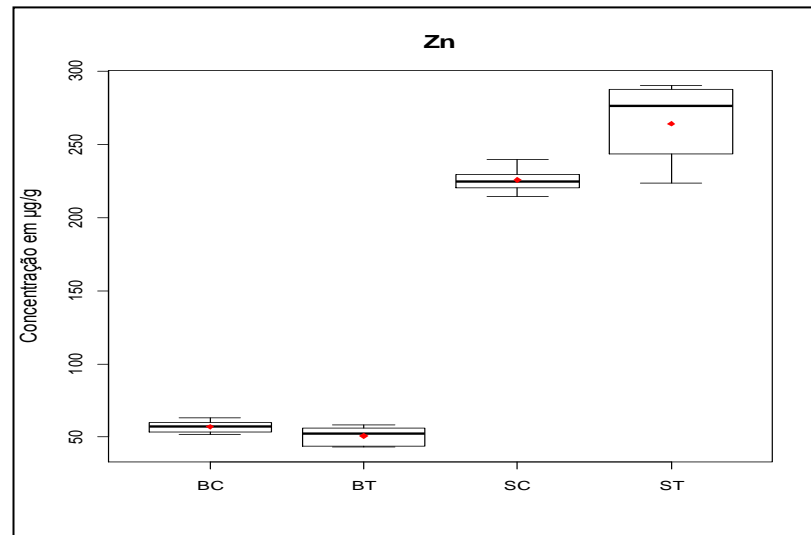


FIGURA 5.12: Dispersão das concentrações de Zn nas amostras de planta de *B. pilosa* e *S. officinalis*. B = Bidens; S = Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Nos boxplots das FIG. 5.13, 5.14, 5.15, 5.16 e 5.17 são mostradas as dispersões dos valores de Cr, Fe, Mg, Mn e Zn respectivamente, nas amostras de extratos aquosos referentes à *Bidens pilosa* e *S. officinalis*. No extrato aquoso de *B. pilosa*, percebe-se que os elementos apresentaram a seguinte ordem, da maior para a menor concentração: Mg, Zn, Fe, Mn e Cr. Para o extrato aquoso de *S. officinalis*, a ordem de concentração dos elementos, do maior para o menor valor, foi: Mg, Zn, Mn e Cr.

Os valores da concentração de Cr, nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa* do grupo controle, ficaram em sua maioria abaixo do limite de detecção e desta forma não foi possível comparar suas dispersões entre os grupos estudados. Para o extrato aquoso de *S. officinalis*, nota-se, pelo boxplot da FIG. 5.13 que as concentrações de Cr, em média, foram maiores no grupo tratamento. O teste-t revelou que os valores de Cr são estatisticamente diferentes nas amostras do extrato aquoso de *S. officinalis* ( $p < 0,05$ ).

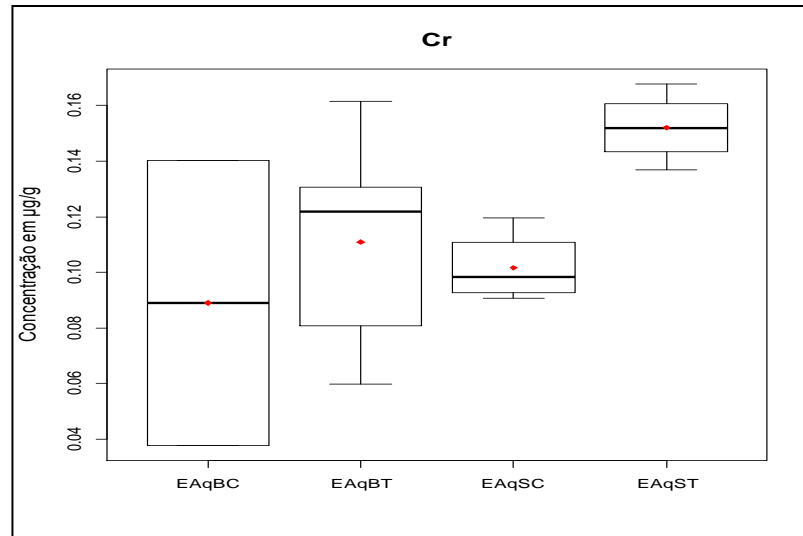


FIGURA 5.13: Dispersão das concentrações de Cr nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAqB = Extrato Aquoso Bidens; EAqS = Extrato Aquoso Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Nos boxplots mostrados na FIG. 5.14, nota-se que os valores das concentrações de Fe se mostraram amplamente dispersos nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa*, principalmente no grupo controle. Não foi avaliada a dispersão dos valores deste elemento no extrato aquoso de *S. officinalis* devido à maioria das amostras terem apresentado valores abaixo do limite de detecção. O teste-t revelou que as concentrações de Fe encontradas nas amostras do extrato aquoso de *B. pilosa* não são diferentes estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

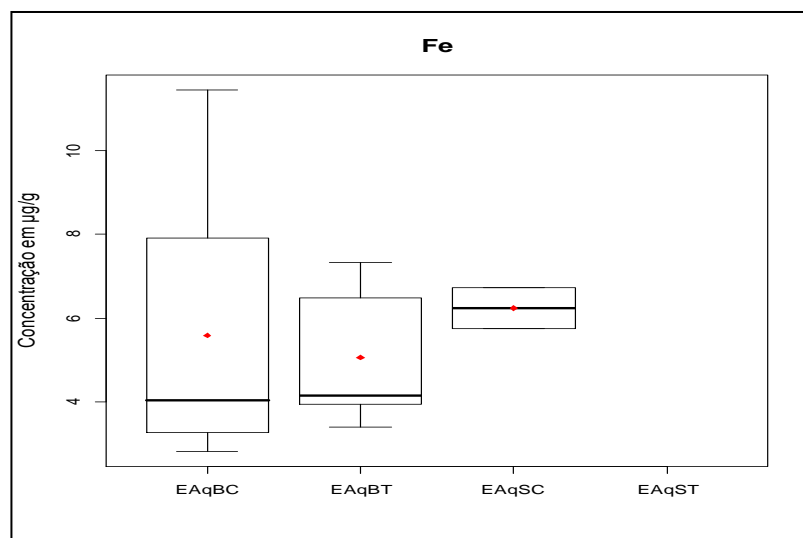


FIGURA 5.14: Dispersão das concentrações de Fe nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAqB = Extrato Aquoso Bidens; EAqS = Extrato Aquoso Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Pelos boxplots mostrados na FIG. 5.15, percebe-se que as amostras de extrato aquoso de *B. pilosa*, preparadas com plantas cultivadas com a solução de nutrientes, em média, apresentaram maiores concentrações de Mg do que o extrato aquoso do grupo controle. Já nos extratos preparados com *S. officinalis*, nota-se que a média das concentrações foi mais elevada nas amostras do grupo controle. O teste-t realizado para comparar as concentrações de Mg nestes extratos revelou que houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) para os valores encontrados nas amostras de ambas as espécies.

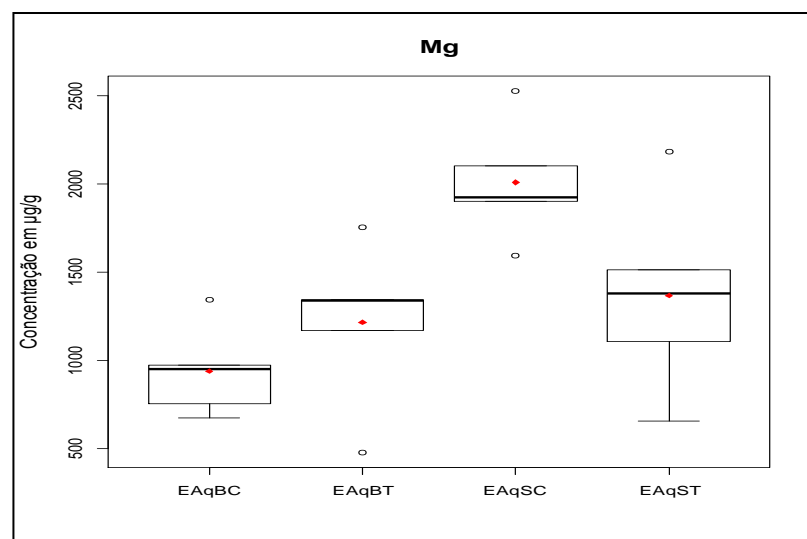


FIGURA 5.15: Dispersão das concentrações de Mg nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAqB = Extrato Aquoso Bidens; EAqS = Extrato Aquoso Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Analisando os boxplots da FIG. 5.16, nota-se, para *B. pilosa*, que a média das concentrações de Mn foi ligeiramente mais elevada nas amostras do grupo tratamento do que no outro grupo. Para *S. officinalis*, no entanto, tem-se que os valores obtidos no grupo controle foram, em média, mais elevados. Para os valores deste elemento, o teste-t indicou que houve diferença estatisticamente significativa apenas para amostras do extrato aquoso de *S. officinalis* ( $p < 0,05$ ).

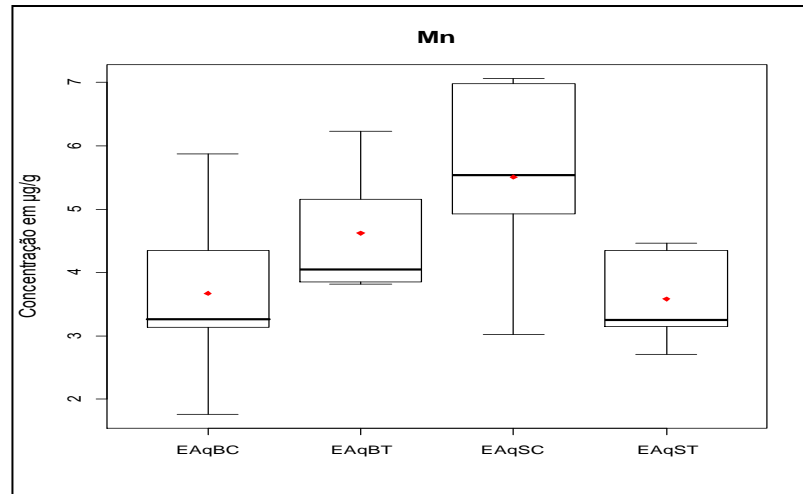


FIGURA 5.16: Dispersão das concentrações de Mn nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAqB = Extrato Aquoso Bidens; EAqS = Extrato Aquoso Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Comparações entre as concentrações de V nos extratos aquosos de *B. pilosa* e *S. officinalis* não foram feitas, pois todas as amostras apresentaram valores abaixo do limite de detecção.

Analisando-se os boxplots referentes às concentrações de Zn (FIG. 5.17) encontradas nas amostras de extratos aquosos preparados com *B. pilosa*, nota-se que os valores dos grupos controle e tratamento se encontraram em uma mesma faixa de concentração. Nas amostras de extrato aquoso de *S. officinalis* pode-se notar que as concentrações obtidas no grupo tratamento foram mais dispersas do que as do controle. A comparação feita por meio de teste-t revelou que as concentrações de Zn nos extratos aquosos não são estatisticamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

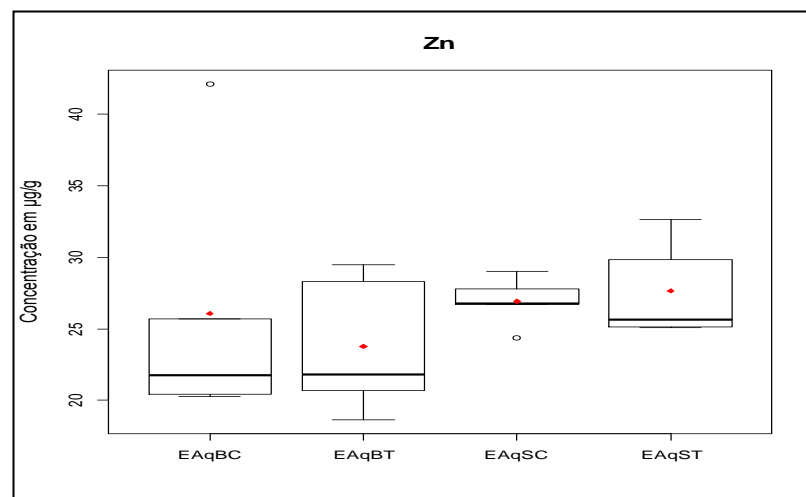


FIGURA 5.17: Dispersão das concentrações de Zn nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAqB = Extrato Aquoso Bidens; EAqS = Extrato Aquoso Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Nos boxplots das FIG. 5.18, 5.19, 5.20, 5.21 e 5.22 são mostradas as dispersões dos valores de Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn respectivamente, para as amostras de extratos alcoólicos de *Bidens pilosa* e *S. officinalis*. Os elementos encontrados no extrato alcoólico de *B. pilosa* seguem a seguinte ordem, da maior para a menor concentração: Mg, Zn, Fe, Mn e Cr. Nas amostras do extrato alcoólico de *S. officinalis* foram determinados, em ordem decrescente de concentração, apenas os elementos Mg, Zn e Mn.

Analisando-se os boxplots da FIG. 5.18, percebe-se que as concentrações de Cr no extrato alcoólico de *B. pilosa* apresentaram maior dispersão no grupo controle do que no tratamento, porém o teste-t aplicado a estes resultados indicou que não há diferença estatística entre eles ( $p > 0,05$ ). A comparação entre amostras de extrato alcoólico de *S. officinalis* não foi realizada devido aos valores encontrarem-se abaixo do limite de detecção.

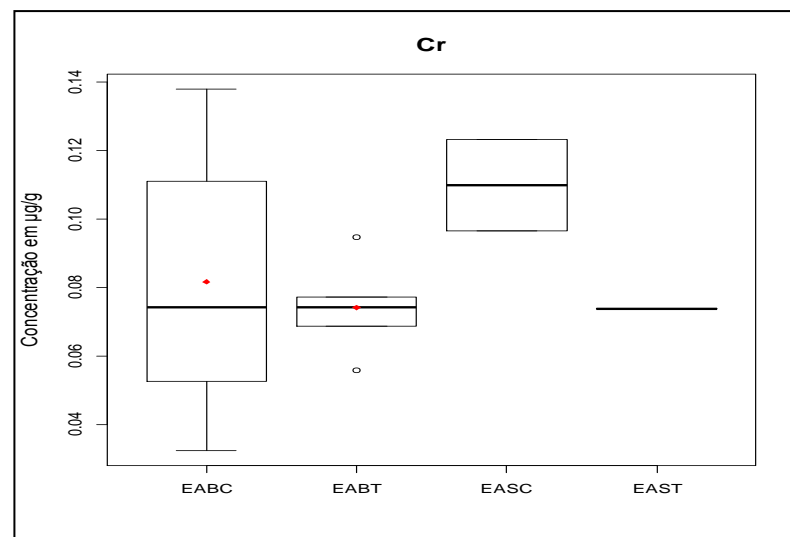


FIGURA 5.18: Dispersão das concentrações de Cr nas amostras de extrato alcoólico de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAB = Extrato Alcoólico Bidens; EAS = Extrato Alcoólico Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Concentrações de Fe foram determinadas apenas nos extratos alcoólicos de *B. pilosa*. Nota-se, pelos boxplots da FIG. 5.19, que a média dos valores encontrados no grupo tratamento foi ligeiramente superior à média do grupo controle. O teste-t indicou que os resultados não são estatisticamente diferentes ( $p > 0,05$ ).



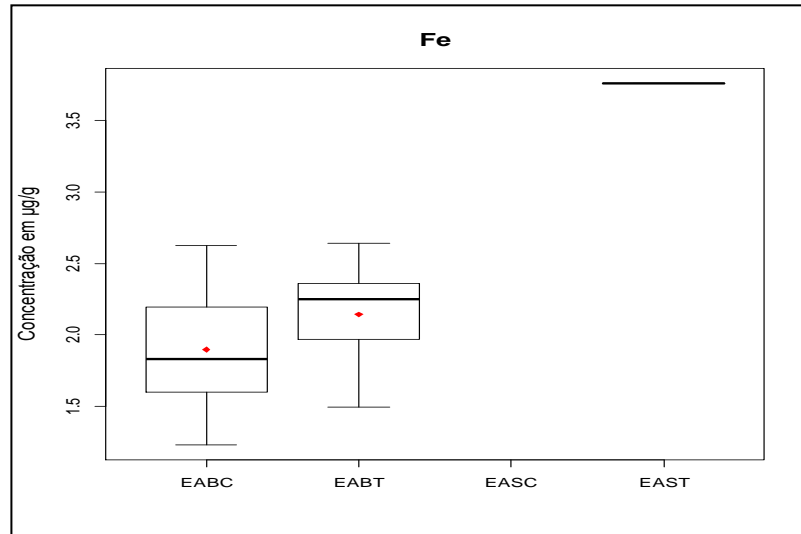


FIGURA 5.19: Dispersão das concentrações de Fe nas amostras de extrato alcoólico de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAB = Extrato Alcoólico Bidens; EAS = Extrato Alcoólico Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

As concentrações de Mg nas amostras de extrato alcoólico de *B. pilosa* se encontram na mesma faixa de dispersão (FIG. 5.20). Para *S. officinalis*, percebe-se que as concentrações deste elemento apresentaram uma ampla dispersão nos dois grupos estudados, sendo que os valores obtidos no grupo controle foram, em média, ligeiramente superiores aos do tratamento. Comparando-se os valores encontrados nos grupos estudados, por meio de teste-t, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa para ambas as espécies ( $p > 0,05$ ).

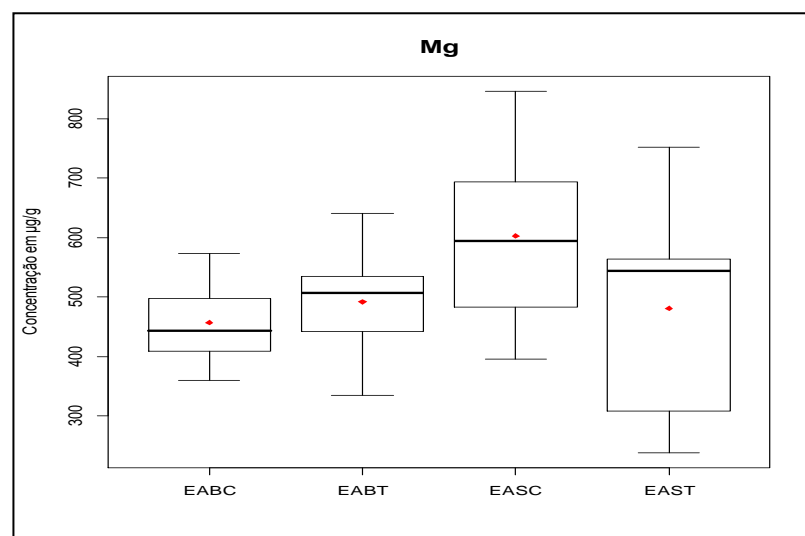


FIGURA 5.20: Dispersão das concentrações de Mg nas amostras de extrato alcoólico de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAB = Extrato Alcoólico Bidens; EAS = Extrato Alcoólico Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Observando-se os boxplots da FIG. 5.21, percebe-se que as concentrações de Mn no extrato alcoólico de *B. pilosa* foram um pouco mais elevadas no grupo tratamento. Um comportamento oposto foi observado no extrato alcoólico de *S. officinalis*, em que se observaram concentrações ligeiramente mais elevadas nas amostras do grupo controle. O teste-t indicou que os extratos alcoólicos de ambas as espécies apresentam valores de Mn que são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) quando comparados os grupos controle e tratamento.

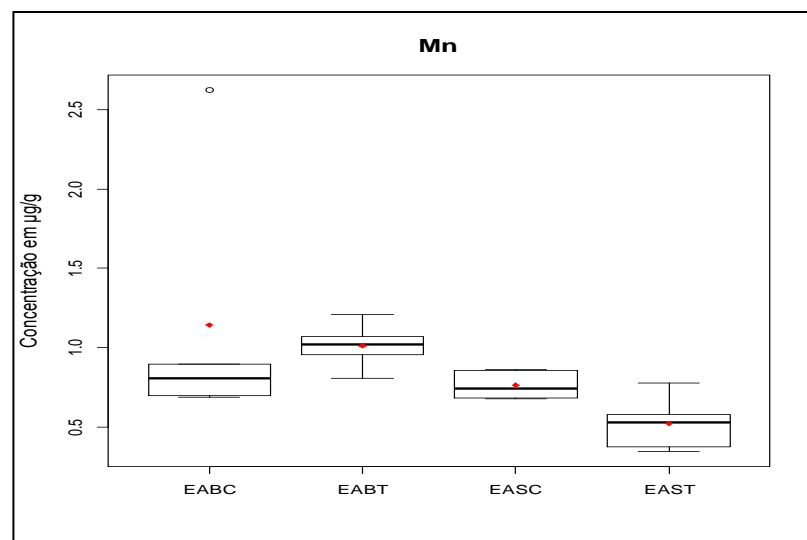


FIGURA 5.21: Dispersão das concentrações de Mn nas amostras de extrato alcoólico de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAB = Extrato Alcoólico Bidens; EAS = Extrato Alcoólico Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Com relação às concentrações de Zn nos extratos alcoólicos, nota-se, pelos boxplots da FIG. 5.22 que, para *B. pilosa*, a média dos valores foi maior nas amostras tratadas com a solução de nutrientes. Por outro lado, para *S. officinalis*, os valores foram, em média, mais elevados nas amostras do grupo controle. O teste-t aplicado indicou que as concentrações deste elemento são estatisticamente diferentes nas amostras referentes à *B. pilosa* e à *S. officinalis* ( $p < 0,05$ ).

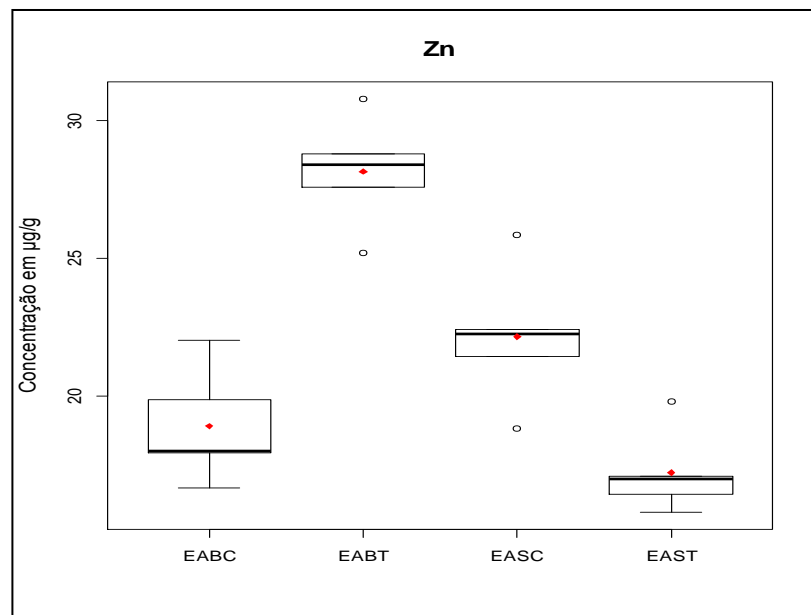


FIGURA 5.22: Dispersão das concentrações de Zn nas amostras de extrato alcoólico de *B. pilosa* e *S. officinalis*. EAB = Extrato Alcoólico Bidens; EAS = Extrato Alcoólico Salvia; C = Controle, e T = Tratamento

Acredita-se que os elementos investigados neste trabalho tenham alguma relação com diabetes *mellitus* (Kazi et al., 2008; Thompson e Godin, 1995; Afridi et al., 2008).

Estudos clínicos e epidemiológicos mostram que a hipomagneseemia ocorre em 13,5 – 47,7% dos pacientes diabéticos. Essa deficiência é observada com maior frequência quando o controle metabólico é deficiente, ou está associada a complicações crônicas do DM. Os mecanismos responsáveis pela deficiência de Mg em pacientes com diabetes ainda não foram esclarecidos. No entanto, a excreção aumentada de Mg pela urina, a baixa ingestão deste micronutriente ou, ainda, a absorção prejudicada podem ter papel significativo na etiologia da deficiência de Mg em diabéticos. Por conseguinte, a diminuição da concentração de Mg pode induzir à resistência insulínica por danos da tirosina quinase, que é responsável pela fosforilação de substratos proteicos. O magnésio também está envolvido na atividade de proteínas que atuam sobre os transportadores de glicose (GLUT), portanto a deficiência desse mineral pode prejudicar o funcionamento dessa estrutura (Sales, 2008). Pelos resultados obtidos, os extratos aquoso e alcoólico de *B. pilosa* e *S. officinalis* podem atuar como um suplemento de Mg.

Em revisão referente ao vanádio, verificou-se que este elemento possui considerável atividade antidiabética. Encontram-se, entre os achados desta revisão: a restauração dos níveis de glicose no sangue de ratos diabéticos após a administração de

água potável com vanádio; a diminuição da glicemia, colesterol e triglicérides em uma variedade de modelos diabéticos devido o uso de sulfato de vanádio; a não toxicidade apontada por estudos de longo prazo em ratos controle e diabéticos com doses de sulfato de vanádio que diminuíram os níveis de glicose no sangue; a redução da necessidade de insulina em até 75% em ratos insulino-dependentes após aplicação de sulfato de vanádio; a eficácia deste elemento quando administrado via oral e intraperitoneal; a produção de um composto orgânico (bismaltolato-oxovanádio IV) mais potente que o sulfato de vanádio, e a sugestão da melhora do quadro de diabetes devido a um efeito insulino-mimético, porém o mecanismo de ação do vanádio ainda é investigado (Poucheret et al., 1998). Os extratos aquoso e alcoólico das duas espécies estudadas não apresentam concentrações mensuráveis deste elemento, porém a introdução de sálvia na alimentação pode eventualmente contribuir para a sua suplementação.

O manganês desempenha importante função em processos fisiológicos por ser constituinte e ativador de algumas enzimas. Estas enzimas ativadas por manganês têm papel importante no metabolismo de carboidratos, aminoácidos e colesterol. Por este motivo a deficiência de Mn pode provocar alterações no organismo de espécies animais, incluindo a tolerância à glicose diminuída (Nicoloff et al., 2004). Em uma revisão realizada por Koh et al. (2014), destaca-se que a relação entre o manganês e a função pancreática foi citada pela primeira vez em 1962 quando o nível de glicose em um paciente diabético caiu após a administração oral de Mn. Foi sugerido que este nutriente pode acelerar a absorção de glicose pela célula por meio do aumento da atividade da insulina, e que o Mn pode agir sobre o pâncreas, estimulando a liberação de insulina para a corrente sanguínea ou por inibir a liberação de glucagon. Na mesma revisão são apresentados trabalhos que apontam que a deficiência de Mn resultou na diminuição da síntese e liberação de insulina; que a carência de Mn pode afetar o transporte de glicose e o metabolismo em adipócitos; e que a suplementação com Mn reduziu o risco da disfunção endotelial no diabetes. Observa-se pelos resultados obtidos que os extratos aquosos de *B. pilosa* e *S. officinales* podem atuar como fontes de suplementação de Mn independentemente de terem ou não sido tratadas com este elemento.

A deficiência de zinco, assim como outros micronutrientes, é atribuída, geralmente, às perdas do mineral pela urina, diminuição na capacidade intestinal de absorção de zinco, além da baixa ingestão dietética (Sena e Pedrosa, 2005). Estudos apontam que a deficiência deste nutriente pode comprometer os processos de formação e cristalização da insulina, e ainda prejudicar a secreção e ação deste hormônio, conduzindo,

consequentemente, à intolerância à glicose (Lima, 2011). Em um trabalho de revisão realizado por Haase e Maret (2005) é abordada a relação do zinco com o diabetes. Foi observado que o zinco pode ser um modulador fisiológico de transdução dos sinais da insulina e que a inibição da proteína tirosina fosfatase é um mecanismo para os efeitos insulino miméticos do zinco. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho a introdução de folhas de sálvia na alimentação ou a ingestão de extratos aquosos ou alcoólicos tanto de *B. pilosa* quanto de *S. officinalis* podem atuar como fonte de Zn para o organismo.

Acredita-se que o cromo seja um micronutriente capaz de manter a tolerância à glicose em níveis normais. Isso ocorre provavelmente porque o cromo trivalente potencia a ação da insulina, possivelmente pela otimização de seu número de receptores, sua interação com a insulina, ou por ambas as ações. O cromo pode estar envolvido em algumas reações biológicas intracelulares que acontecem após a ativação de receptores de insulina. Este elemento pode ainda regular a síntese de uma molécula que potencia a ação da insulina (Marques, 2000). Em uma revisão realizada por Anderson (1999) foram citados diversos trabalhos que indicam que a suplementação com Cr teve efeitos benéficos sobre pessoas com intolerância à glicose. A sensibilidade à insulina aumentada também é apontada como o modo de ação do Cr, nesta revisão. Acredita-se que a suplementação com cromo seja capaz de aumentar a fosforilação do receptor de insulina devido ao aumento da ativação da enzima tirosina quinase e inibição da enzima tirosina fosfatase. As concentrações de Cr, no entanto, foram relativamente baixas tanto nas amostras de plantas quanto nos seus extratos.

Ao contrário do que acontece com os micronutrientes Cr, Mg, Mn, V e Zn, a influência de Fe no diabetes está relacionada à alta concentração deste nutriente, que é observada em situações de hemocromatose (distúrbios genéticos que causam sobrecarga de ferro). Dados epidemiológicos mostram uma correlação positiva entre estoques de ferro corporais e desenvolvimento de intolerância a glicose em diabetes tipo II. Para pacientes com hemocromatose os mecanismos que podem contribuir para o desenvolvimento de diabetes e hiperglicemia são a sobrecarga de ferro no fígado, levando a resistência à insulina; e o acúmulo de ferro nas células beta do pâncreas, resultando em danos nessas células e consequente redução na secreção de insulina, possivelmente mediados pelo estresse oxidativo (Silva, 2011). Além dos mecanismos já citados, na revisão realizada por Shah e Fonseca (2011) sugere-se também que o excesso de Fe pode diminuir a absorção de glicose em células musculares e adiposas. Pelos resultados obtidos, verificou-se que a *B. pilosa* possui grande afinidade por este elemento, visto que as

amostras tratadas com solução contendo ferro foram as que apresentaram as maiores concentrações. Desta forma, sugere-se que se deve evitar a adição de ferro para cultivo desta espécie se utilizada com finalidade de tratamento do DM.

### 5.3.1 Fator de transferência

Embora as plantas possam absorver nutrientes por meio das folhas, é sabido que as raízes são os principais órgãos responsáveis por essa função (Tukey, 1952). Para visualizar a tendência que a *Bidens pilosa* e a *Salvia officinalis* apresentam para a absorção dos elementos de interesse para esse trabalho, foi calculado o fator de transferência (FT) do solo para a planta. Da mesma forma, o fator de transferência também foi calculado para saber o quanto dos elementos pode ser transferido das plantas para os extratos. O cálculo de FT é definido como a razão da concentração em uma matriz A pela concentração do elemento na matriz B (EQUAÇÃO 5.1) e o valor encontrado é expresso em porcentagem.

$$FT\% = \frac{\text{concentração do elemento em A}}{\text{concentração do elemento em B}} \times 100 \quad (\text{EQUAÇÃO 5.1})$$

A seguir, são apresentados, de forma gráfica, os valores médios dos fatores de transferência para os elementos Mg, Mn e Zn (FIG 5.23), e Cr, Fe e V (FIG. 5.24) em matrizes referentes à *B. pilosa* (matriz A referente à planta, e matriz B referente ao solo).

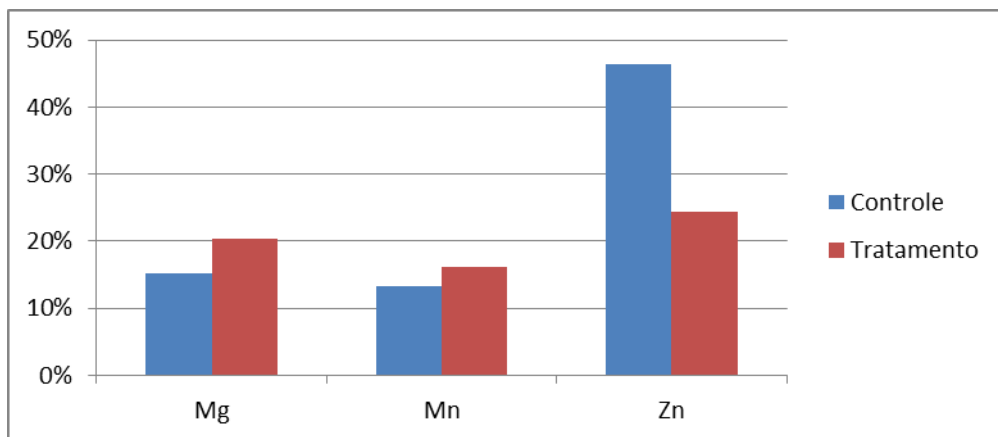


FIGURA 5.23: Média dos valores de FT para Mg, Mn e Zn nos grupos controle e tratamento de *B. pilosa*

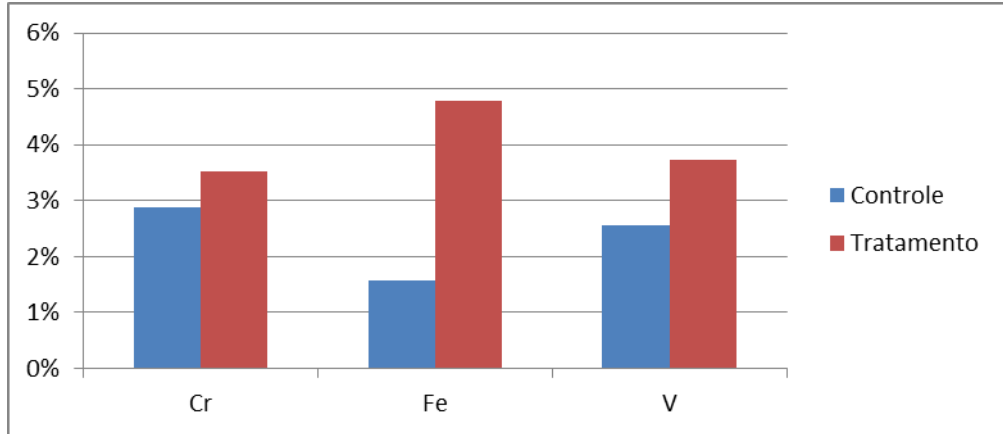


FIGURA 5.24: Média dos valores de FT para Cr, Fe e V nos grupos controle e tratamento de *B. pilosa*

Nota-se que para todos os elementos, com exceção do Zn, o FT foi mais elevado nas amostras do grupo tratamento, sendo que para os elementos Fe, Mg e V a diferença foi maior. Isso indica que pode haver uma tendência da planta pela absorção desses elementos. Quanto ao Zn, os menores valores de FT observados no grupo tratamento podem ter ocorrido devido à competição pela absorção de micronutrientes. Em um trabalho realizado para avaliar a absorção de Zn em arroz, verificou-se que elevadas concentrações de Fe e Mn podem estar relacionadas à diminuição da absorção de Zn, e foi observado ainda que, embora o Mg tenha diminuído a absorção de Zn pelas raízes, houve melhora na translocação para as partes aéreas (Giordano et al., 1974). Observa-se ainda, na FIG. 5.23, que valores de FT acima de 10% foram encontrados para os elementos Mg, Mn, e Zn, enquanto que para os elementos Cr, Fe e V os valores obtidos foram inferiores a 5%.

Nas FIG. 5.25 e 5.26 são mostrados os gráficos dos FT das plantas para os extratos aquosos de *B. pilosa*.

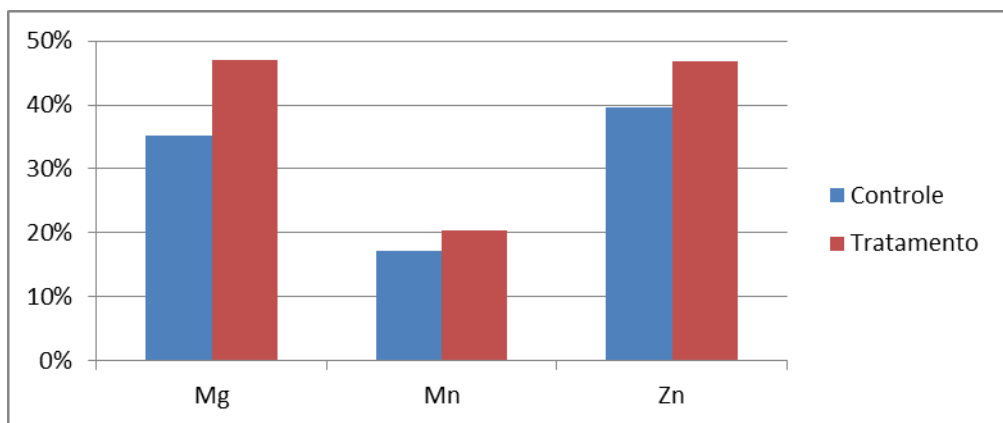


FIGURA 5.25: Média dos valores de FT para Mg, Mn e Zn nos grupos controle e tratamento do extrato aquoso de *B. pilosa*

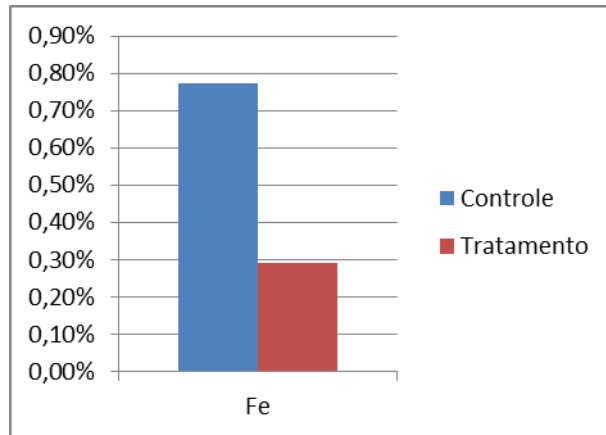


FIGURA 5.26: Média dos valores de FT para Fe nos grupos controle e tratamento do extrato aquoso de *B. pilosa*

Os valores médios de FT nos extratos aquosos de *B. pilosa* indicam que os elementos Mg e Zn foram transferidos mais facilmente das plantas para os extratos do que os elementos Mn (FT próximo de 20%) e Fe (FT abaixo de 1%). Nos extratos, as maiores concentrações foram observadas para Mg (em torno de  $1100 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e Zn (em torno de  $25 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Apesar das diferenças entre os fatores de transferência do Mn e do Fe, suas concentrações nos extratos foram muito parecidas.

Nas FIG. 5.27, 5.28 e 5.29 são apresentados os valores médios dos fatores de transferência das plantas para os extratos alcoólicos.

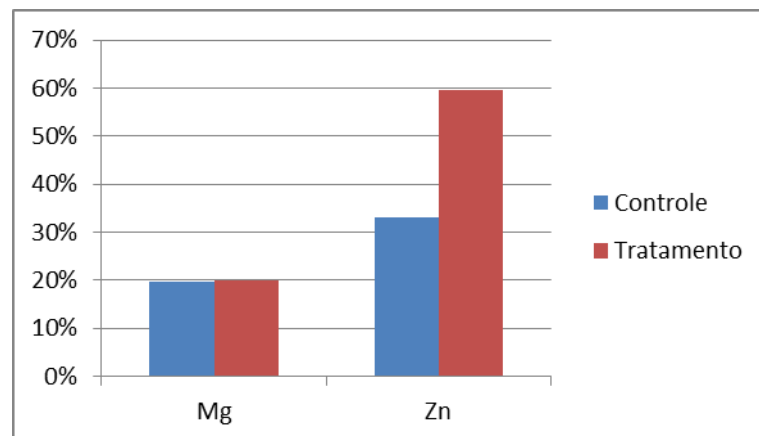


FIGURA 5.27: Média dos valores de FT para Mg e Zn nos grupos controle e tratamento do extrato alcoólico de *B. pilosa*



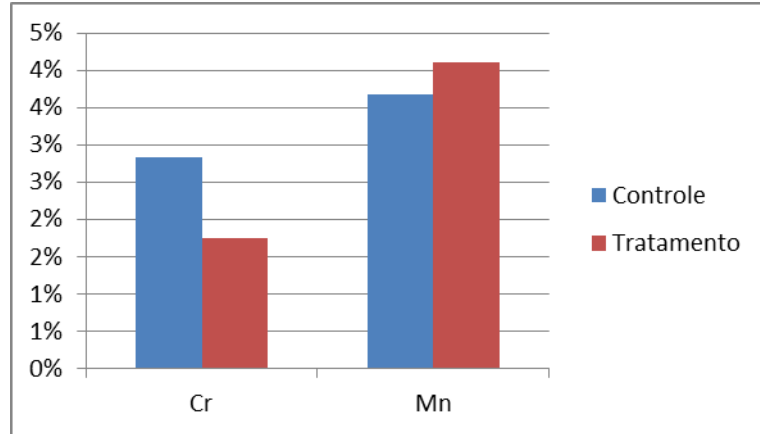


FIGURA 5.28: Média dos valores de FT para Cr e Mn nos grupos controle e tratamento do extrato alcoólico de *B. pilosa*

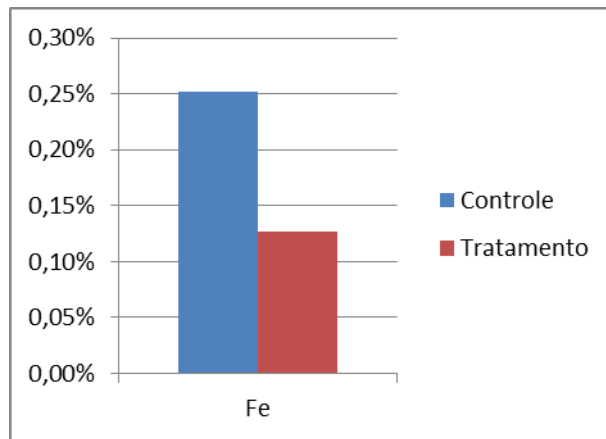


FIGURA 5.29: Média dos valores de FT para Fe nos grupos controle e tratamento do extrato alcoólico de *B. pilosa*

Nota-se que foram formados três grupos conforme a grandeza dos valores de FT obtidos. O primeiro é formado por Mg e Zn. O zinco foi elemento transferido para o extrato alcoólico em maior porcentagem, sendo que a média de FT nas amostras do grupo tratamento foi de 60%. O segundo grupo apresentou valores médios de FT de aproximadamente 2,5% e 4% para Cr e Mn, respectivamente. O terceiro grupo é formado pelo Fe, que foi o elemento que apresentou a menor porcentagem de transferência para o extrato alcoólico. Porém, em média, as concentrações do Fe nessas amostras foram mais elevadas do que as concentrações de Cr e Mn.

Os fatores de transferência da planta para o extrato aquoso para Cr e V, e da planta para o extrato alcoólico para V não foram calculados, pois o valor da concentração desses elementos nos extratos de *B. pilosa* ficou abaixo do limite de detecção.

Nas FIG. 5.30, 5.31 e 5.32 são apresentados os valores médios dos fatores de transferência do solo para as amostras de plantas da espécie *S. officinalis*.

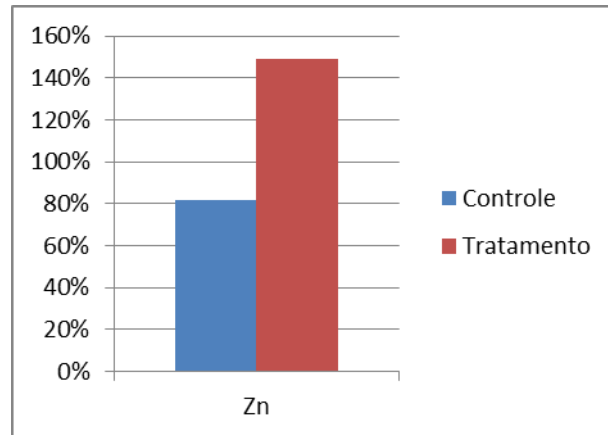


FIGURA 5.30: Média dos valores de FT para Zn nos grupos controle e tratamento de *S. officinalis*

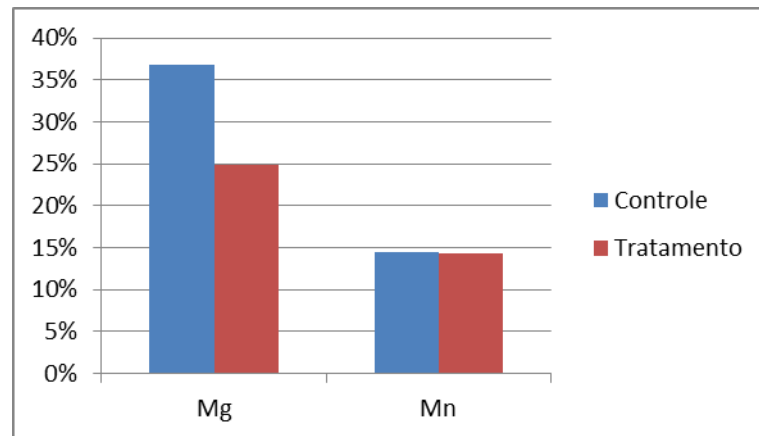


FIGURA 5.31: Média dos valores de FT para Mg e Mn nos grupos controle e tratamento de *S. officinalis*

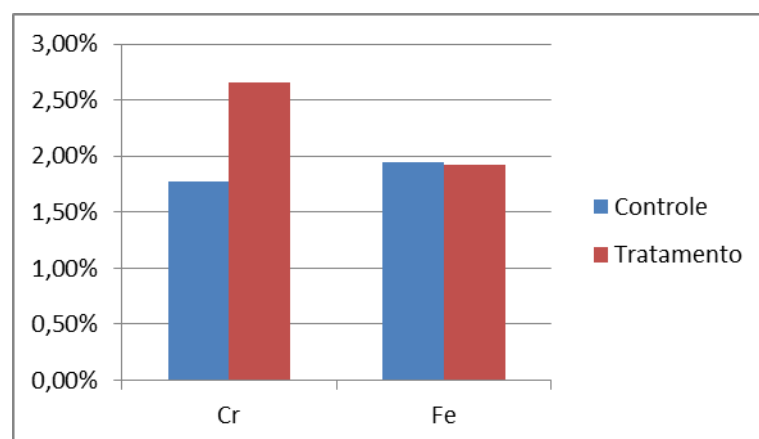


FIGURA 5.32: Média dos valores de FT para Cr e Fe nos grupos controle e tratamento de *S. officinalis*

Nota-se, na FIG. 5.30, que o zinco apresentou o maior FT do solo para a planta, sendo que as suas concentrações médias nas plantas foram de  $226 \mu\text{g g}^{-1}$  e  $264 \mu\text{g g}^{-1}$  para os grupos controle e tratamento respectivamente. Quando comparados os grupos controle e

tratamento, percebe-se que a média dos valores de FT no grupo tratado com a solução de micronutrientes foi consideravelmente mais elevada, o que sugere que esse efeito tenha sido provocado pelo aumento da concentração de Zn no solo. Na FIG. 5.31, percebe-se que o FT para Mg foi mais elevado no grupo controle (aproximadamente 35%) do que no tratamento (aproximadamente 25%), sendo que, entre os elementos avaliados, este foi o mais abundante nas amostras de plantas. Já para o Mn não houve muita variação entre as médias dos FT dos grupos estudados, sendo que estes valores ficaram um pouco abaixo de 15%. Os FT para Cr e Fe (FIG. 5.32) foram os mais baixos, sendo que os valores foram de aproximadamente 1,5%, o que significa que esses elementos não são facilmente transferidos do solo para as plantas. Apesar do baixo valor de FT observado para Fe, sua concentração média na planta foi mais elevada que a de Zn, que apresentou o maior valor de FT.

Na FIG. 5.33 são apresentados os valores médios dos fatores de transferência da planta para os extratos aquosos de *S. officinalis* para os elementos Cr, Mg, Mn e Zn.

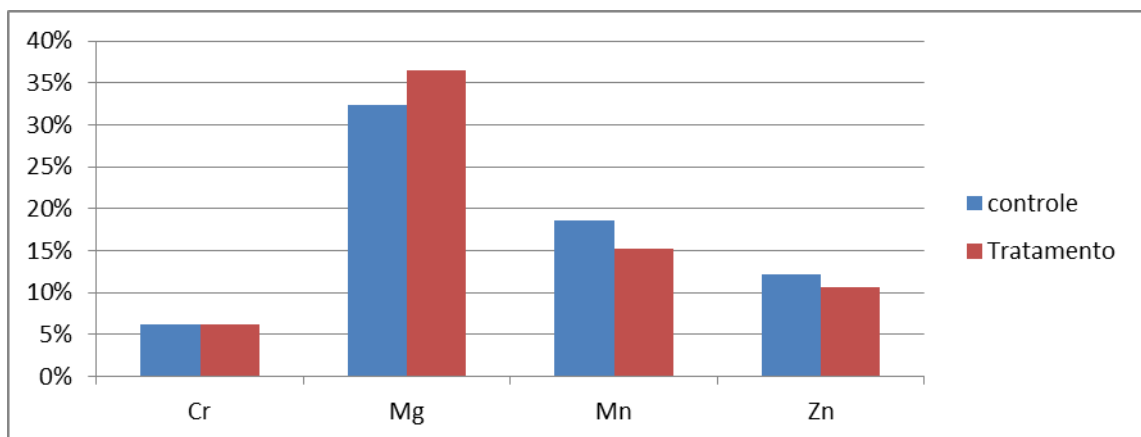


FIGURA 5.33: Média dos valores de FT para Cr, Mg, Mn e Zn nos grupos controle e tratamento do extrato aquoso de *S. officinalis*

Ao analisar os valores encontrados, percebe-se que não houve muita diferença entre os grupos controle e tratamento. Dentre estes, o elemento transferido em maior quantidade para o extrato aquoso foi o Mg, que apresentou valores de aproximadamente 33%, além disso, sua concentração nos extratos aquosos foi a maior observada. O cromo foi o elemento que apresentou o menor valor de FT (aproximadamente 5%) e também as menores concentrações nos extratos. Com relação ao zinco, apesar de ter sido observada uma boa capacidade de absorção pelas plantas, os valores médios de FT para os extratos ficaram em torno de 11%.

Na FIG. 5.34 são mostrados os valores médios dos fatores de transferência da planta para os extratos alcoólicos de *S. officinalis* para os elementos Mg, Mn e Zn.

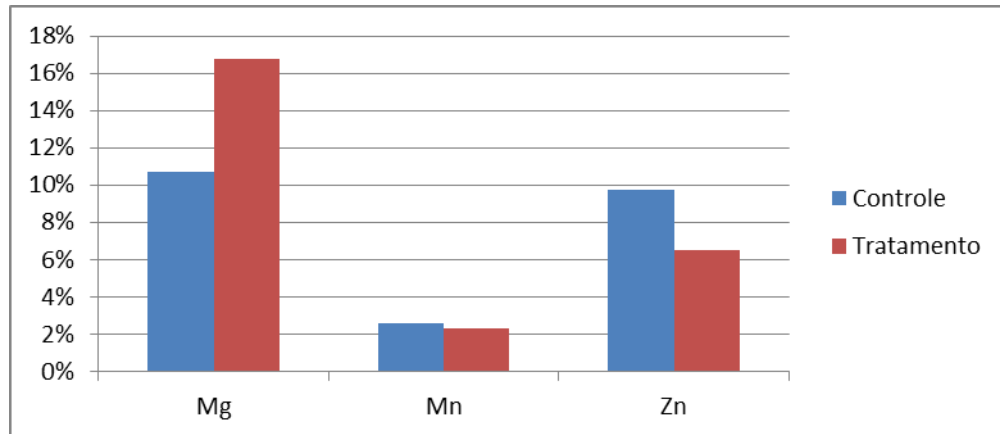


FIGURA 5.34: Média dos valores de FT para Mg, Mn e Zn nos grupos controle e tratamento do extrato alcoólico de *S. officinalis*

Verifica-se que a transferência dos elementos das plantas para os extratos alcoólicos ocorreu em quantidades relativamente baixas, sendo que o único elemento que apresentou valores médios de FT acima de 10% foi o Mg, que foi também determinado em concentrações mais elevadas nos extratos.

As análises do fator de transferência para o V do solo para as plantas, para o Fe e o V das plantas para os extratos aquosos, e para o Cr, Fe e V das plantas para os extratos alcoólicos de *S. officinalis* não foram realizadas, uma vez que a concentração desses elementos ficou abaixo do limite de detecção, principalmente em amostras dos extratos.

De forma geral, a avaliação das concentrações Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn por meio do cálculo do fator de transferência demonstrou que os elementos Mg, Mn e Zn foram absorvidos mais facilmente pelas plantas. Nos extratos de *B. pilosa* observou-se que Mg e Zn foram transferidos em maior porcentagem que os demais elementos. Já para os extratos de *S. officinalis* apenas o Zn apresentou maiores FT comparado aos demais elementos. Notou-se também que o ferro foi transferido para os extratos de *B. pilosa* em quantidades inferiores a 1%. A análise do fator de transferência permitiu ainda observar que os valores de FT obtidos para os extratos aquosos foram predominantemente superiores aos valores de FT para os extratos alcoólicos.

#### 5.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

As condições empregadas no preparo e análise dos extratos aquosos e alcoólicos de *Bidens pilosa* foram eficazes para gerar os dados referentes à quantidade de ácido clorogênico presente nas amostras. A partir desses resultados, os valores encontrados nos grupos controle e tratamento foram comparados por meio de teste-t com variáveis independentes. Gráficos do tipo boxplot foram utilizados para melhor visualizar como os valores dos picos de absorvância estão dispersos entre as amostras.

Na FIG. 5.35, são mostrados os boxplots referentes aos valores das áreas dos picos de absorvância do ácido clorogênico, percebe-se que, em média, esses valores foram mais elevados nas amostras do grupo controle em ambos os extratos alcoólicos e aquosos. A comparação feita por meio de teste-t revelou que os valores do ácido clorogênico são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) apenas nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa*.

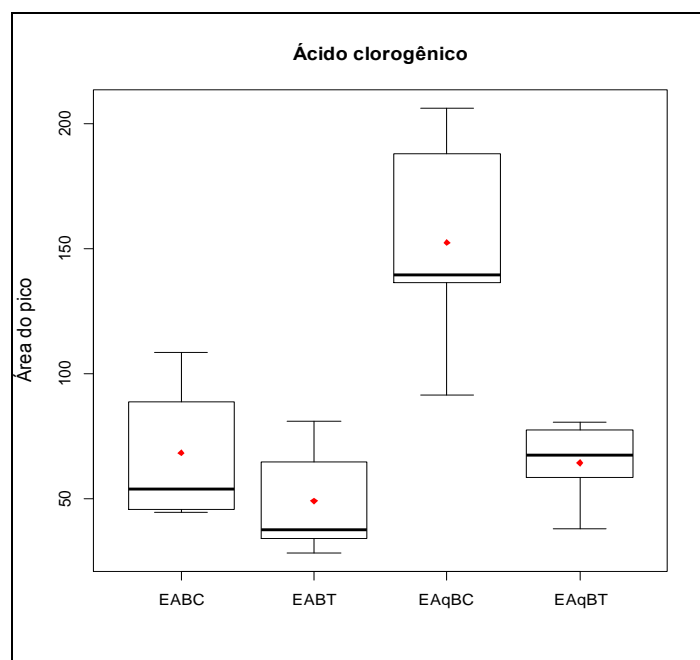


FIGURA 5.35: Dispersão dos valores dos picos de absorvância do ácido clorogênico encontrados nos extratos alcoólicos e aquosos de *B. pilosa*

Os resultados obtidos para os extratos de *Bidens pilosa* sugerem que a adição da solução contendo os elementos Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn pode ter contribuído para a diminuição da produção do ácido clorogênico pelas plantas.

Estudos recentes têm mostrado que alguns ácidos cafeoilquínico possuem atividade antidiabética promissora. Foi demonstrado, em um estudo realizado por Ong et al. (2013), que o ácido 3-cafeoilquínico melhorou o metabolismo de glicose e lipídeos em

ratos com diabetes tipo 2. Os ácidos 3,4-dicafeoilquínico e 1,5-dicafeoilquínico exibiram atividade inibitória da  $\alpha$ -glicosidase, enzima que tem a função de fracionar a sacarose, o amido e a maltose (Islam et al., 2013). O ácido 3,4,5-tricafeoilquínico mostrou forte efeito anti-hiperglicêmico em ratos Sprague–Dawley alimentados com maltose (Matsui et al., 2004).

Em um trabalho realizado por Andrade-Cetto e Wiedenfeld (2001) foi verificado o efeito hipoglicemiante dos extratos aquosos e butanólicos de *Cecropia obtusifolia*. Os autores atribuíram o efeito antidiabético semelhante ao da glibenclamida aos principais compostos presentes nos extratos: isoorientina e ácido 3-cafeoilquínico.

Em um estudo fitoquímico das inflorescências femininas e masculinas de espécies de embaúbas (*C. glaziovii*, *C. hololeuca* e *C. pachystachya*) foi verificado que o ácido clorogênico é a substância fenólica majoritária de seus extratos aquosos e também um dos principais responsáveis pela atividade sequestrante de radical livre destas amostras (José-Chagas et al., 2014). Os autores apontam que uma dieta rica em substâncias antioxidantes exerce um efeito protetor contra doenças que estejam associadas ao estresse oxidativo, como o diabetes.

Em um trabalho realizado por Wu et al. (2014) foram avaliados os efeitos anti-hiperglicêmicos e anti-hiperlipidêmicos em ratos diabéticos tipo II do extrato do fruto de *Pandanus tectorius*, que é rico em ácidos cafeoilquínicos. O tratamento com esse extrato reduziu significativamente o peso corporal, o nível de glicose em jejum, o hiperinsulinismo e a hiperlipidemia. Os autores sugerem que os ácidos cafeoilquínicos do fruto de *P. tectorius* são benéficos para o tratamento de diabetes e que a hiperglicemia e dislipidemia podem ser aliviadas por meio da ativação da via AMPK-AS160-GLUT4 em músculos esqueléticos, e regulação do metabolismo de glicose e lipídeos no fígado. As proteínas AMPK e AS160, quando ativadas promovem o deslocamento de vesículas que contêm o GLUT4 (um importante transportador de glicose) do meio intracelular para a membrana celular. Esse transportador de glicose se incorpora à membrana da célula e conseqüentemente estimula a absorção de glicose na musculatura esquelética. A regulação do metabolismo hepático de glicose é sugerida devido aos resultados que indicaram aumento da síntese de glicogênio e redução da gliconeogênese. Enquanto que o metabolismo de lipídeos seria regulado devido ao aumento da oxidação de lipídeos e redução de genes lipogênicos.

Para *Salvia officinalis*, foram encontradas dificuldades na etapa de preparação das amostras, visto que ocorreu formação de fungos em alguns dos extratos. Após a análise

dos extratos por HPLC, notou-se que os valores das áreas dos picos de absorvância do ácido rosmarínico se mostraram muito dispersos, tanto no grupo controle quanto no grupo tratamento. A FIG. 5.36 representa um cromatograma do extrato aquoso de *S. officinalis* com alto rendimento do ácido rosmarínico, enquanto que na FIG. 5.37 é apresentada a situação inversa, com baixo rendimento desse composto.

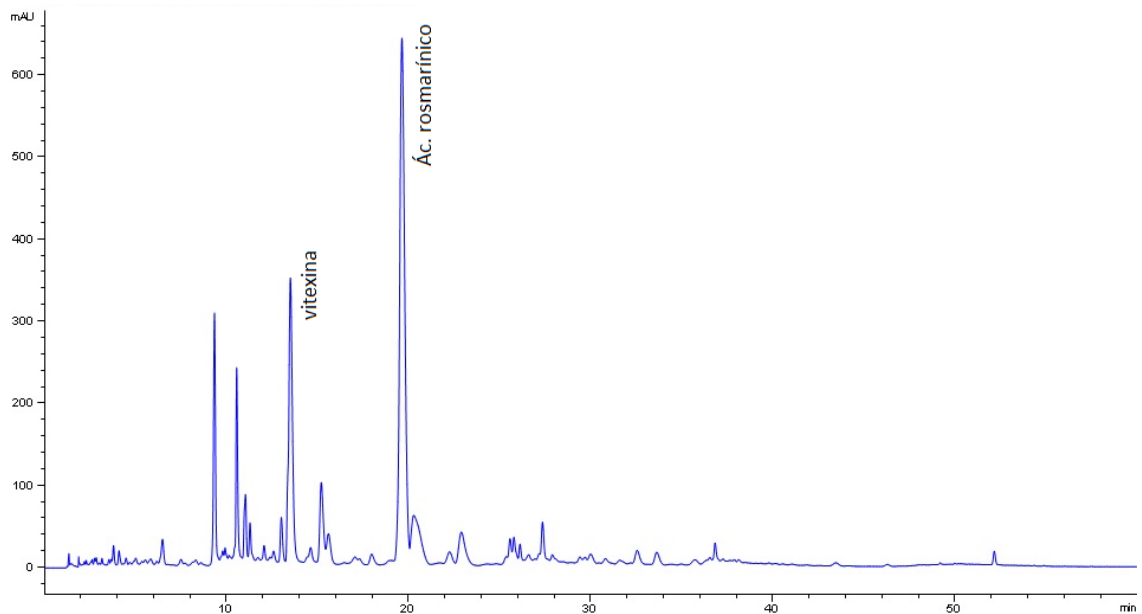


FIGURA 5.36: Cromatograma do extrato aquoso de *S. officinalis* com alto rendimento de ácido rosmarínico

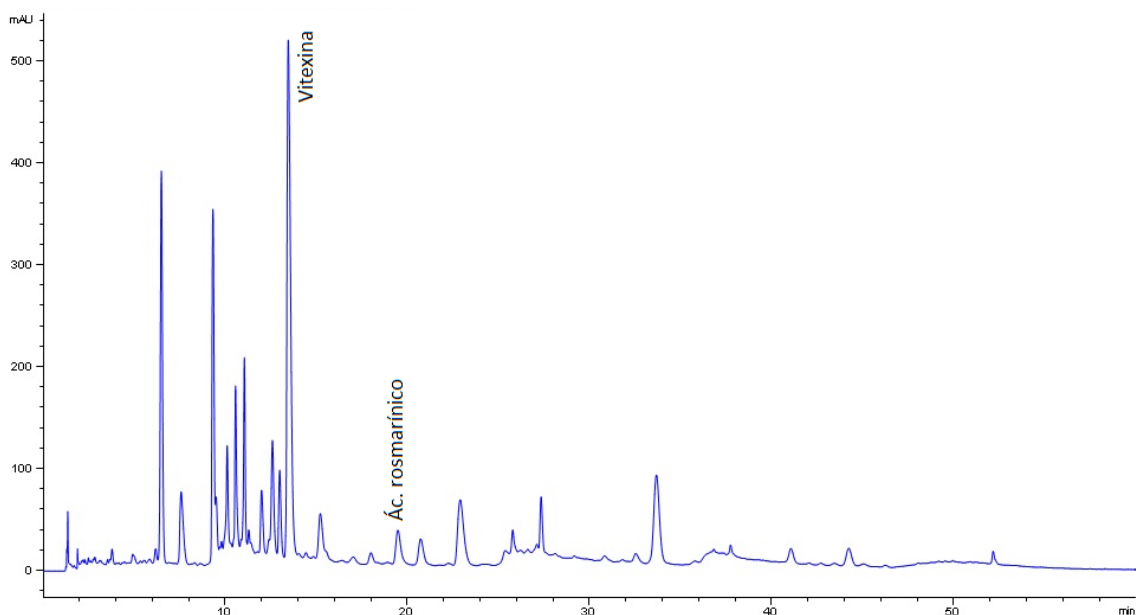


FIGURA 5.37: Cromatograma do extrato aquoso de *S. officinalis* com baixo rendimento de ácido rosmarínico

Foi realizada consulta à literatura a fim de encontrar informações relacionadas à degradação do ácido rosmarínico pela ação de fungos, no entanto, não foram achados trabalhos referentes a este assunto. Para avaliação do ácido rosmarínico, optou-se por considerar apenas as amostras de extratos que apresentaram altas quantidades deste metabólito. Sendo assim, para os extratos aquosos foram consideradas apenas as amostras EAqSC3 e EAqSC4 no grupo controle, e as amostras EAqST1, EAqST4 e EAqST5 no grupo tratamento. Já para os extratos alcoólicos foram avaliados apenas os resultados das amostras EASC3, EASC4 e EASC5 no grupo controle, e as amostras EAST1 e EAST4 no grupo tratamento. Este critério foi escolhido com base em trabalhos que apontam que o ácido rosmarínico é um dos compostos fenólicos majoritários presente em *S. officinalis* (Dent, et al., 2013; Zimmermann et al., 2011; Meda et al., 2010; Grzegorzczuk et al., 2005). Devido ao reduzido número de amostras, a avaliação do ácido rosmarínico em *S. officinalis* foi realizada apenas com os valores médios das áreas dos picos de absorbância desse composto.

Na FIG. 5.38, observa-se que, em média, os valores do ácido rosmarínico nas amostras dos grupos controle e tratamento foram muito parecidos, porém com um rendimento mais elevado em extratos preparados com água.

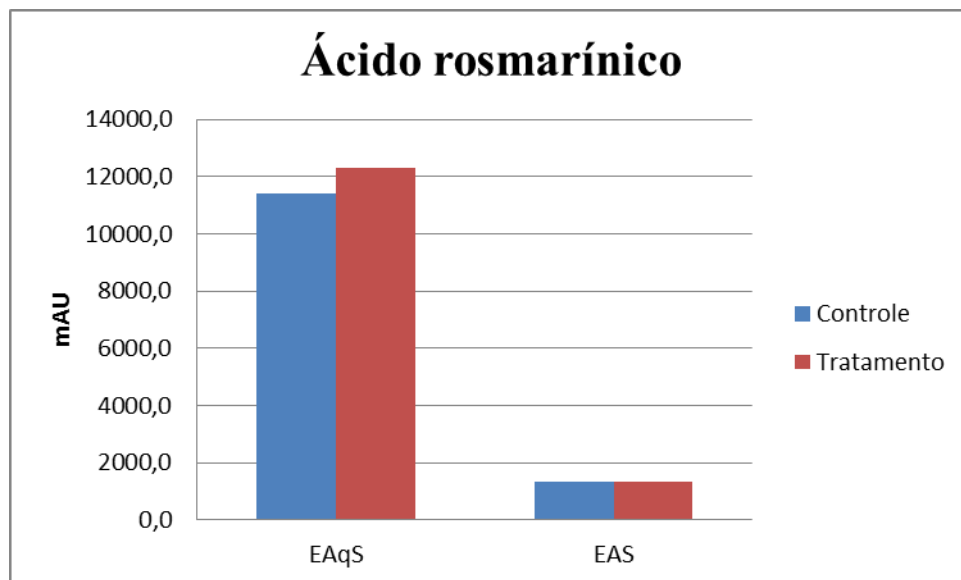


FIGURA 5.38: Valores médios das áreas dos picos de absorbância do ácido rosmarínico em amostras dos extratos aquosos (EAqS) e alcoólicos (EAS) de *S. officinalis*



Quanto aos resultados obtidos para a vitexina, foram observados valores mais uniformes, com exceção apenas dos resultados da amostra EAqSC1, que apresentou valores muito inferiores àqueles encontrados nas demais amostras do mesmo grupo.

Analisando a FIG. 5.39 é possível observar que, para os extratos aquosos de *S. officinalis*, as médias dos valores de vitexina são muito próximas entre os grupos estudados, enquanto que para os extratos alcoólicos, foi observado maior rendimento desse metabólito nas amostras do grupo tratamento. O teste-t revelou que são estatisticamente diferentes apenas os valores de vitexina referentes às amostras do extrato alcoólico de *S. officinalis* ( $p < 0,05$ ).

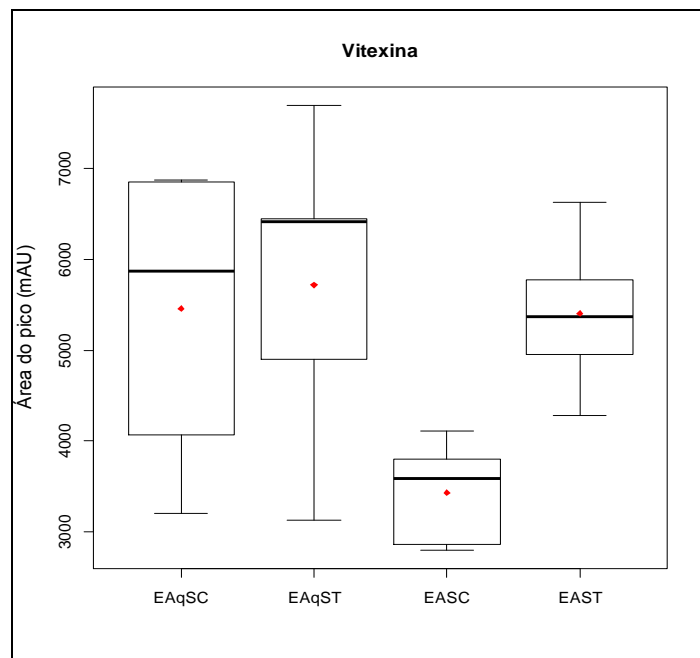


FIGURA 5.39: Dispersão dos valores dos picos de absorvância da vitexina encontrados nos extratos alcoólicos e aquosos de *S. officinalis*

A eficácia antidiabética do ácido rosmarínico foi avaliada em um trabalho realizado por Jayanthi e Subramanian (2014). Neste estudo foi observado que após a administração de ácido rosmarínico em ratos diabéticos tipo II, houve melhora no controle glicêmico. Os autores sugerem que o metabólito estudado pode melhorar a secreção de insulina pelas células beta pancreáticas e também aumentar a sensibilidade desse hormônio. Foi observado, ainda, controle dos níveis de glicose devido ao aumento da atividade de enzimas envolvidas no processo de síntese de glicogênio, bem como redução da atividade de enzimas relacionadas com os processos de gliconeogênese e glicogenólise.

Em um trabalho realizado por Moradabadi et al. (2013), foi observada a atividade antidiabética do extrato metanólico de *S. officinalis*. Os autores sugerem que a inibição da alfa-glicosidase, uma enzima que catalisa a etapa final da digestão de carboidratos, pelo ácido rosmarínico e outros compostos fenólicos, pode ter contribuído para o efeito provocado pelo extrato. A inibição da alfa-glicosidase pelo extrato de *S. officinalis* foi avaliada por Kwon et al. (2006). Constatou-se nesse estudo que o ácido rosmarínico e outros compostos fenólicos apresentaram forte atividade inibitória da alfa-glicosidase. Desta forma, os autores concluíram que esse efeito poderia ser potencialmente usado na terapia para hiperglicemia pós-prandial.

Em estudo realizado por Choo et al. (2012), buscou-se identificar e avaliar os constituintes orgânicos presentes no extrato de *Ficus deltoidea* Jack capazes de inibir a atividade da alfa-glicosidase. Foram identificados dois flavonoides biativos: a vitexina e isovitexina. Foi verificado que a administração oral desses compostos reduziu significativamente o nível de glicose após a refeição, o que sustenta o uso de *F. deltoidea* por pacientes diabéticos. O efeito inibidor da alfa-glicosidase provocado pela vitexina também foi observado por Shibano et al. (2008).

Outro caminho pelo qual a vitexina pode contribuir para diminuir o nível de glicose no sangue foi estudado por Choi et al. (2014). Foi observado, neste trabalho, que o metabólito foi capaz de reduzir a atividade de PTP1B, uma enzima que exerce efeitos negativos sobre a sinalização da insulina, e consequentemente aumentar a sensibilidade a esse hormônio que facilita a entrada de glicose nas células.

## **5.5 Análise de correlação**

A análise de correlação é empregada para avaliar a relação de linearidade entre duas variáveis. Uma forma de medir a força de associação linear entre duas variáveis aleatórias é feita através de coeficientes de correlação, ou mais precisamente, do coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ). A variação do valor de  $r$  vai de - 1 (correlação negativa) até + 1 (correlação positiva), passando pelo ponto zero e neste caso não há correlação (Figueiredo Filho e Silva Júnior, 2009).

Valores extremos como 0 e 1 dificilmente são encontrados, então, de acordo com seus estudos, alguns autores sugerem uma classificação para a magnitude dos coeficientes calculados. Para Cohen (1988), valores entre 0,10 e 0,29 podem ser considerados pequenos; escores entre 0,30 e 0,49 podem ser considerados como médios; e valores entre 0,50 e 1 podem ser interpretados como grandes. Dancey e Reidy (2005)

apontam para uma classificação ligeiramente diferente:  $r = 0,10$  até  $0,30$  (fraco);  $r = 0,40$  até  $0,6$  (moderado);  $r = 0,70$  até  $1$  (forte). A maioria dos pacotes estatísticos, no entanto, considera um valor de “ $r$ ” como uma correlação significativa baseado no número de medidas ( $n$ ) a um dado nível de significância. Neste trabalho foi utilizado o software Statistica e um nível de significância  $p < 0,05$ .

O coeficiente de correlação foi calculado para os elementos determinados pela técnica de análise por ativação com nêutrons e para os compostos ácido clorogênico, ácido rosmarínico e vitexina de acordo com a matriz analisada. O objetivo desta análise foi verificar as possíveis correlações existentes entre os elementos de interesse deste estudo e os demais elementos determinados pela técnica utilizada (INAA).

Na TAB. 5.1 são apresentados os coeficientes de correlação de Pearson para os elementos analisados nas amostras de solo de *Bidens pilosa*. Os resultados demonstram que Br, Cs, Fe, Hf, Sc e Zr apresentaram boa correlação entre si. O Cr apresentou correlação significativa positiva com o Ba, Ce, Co, La e Mn. Entre os elementos essenciais aos vegetais, foram observadas correlações significativas positiva entre o Zn e o Mn, e negativa entre o Zn e o Mg. Também foram observadas correlações fortes entre os pares de elementos Ba/Zn, Br/Zr e Sm/Th.

Os resultados encontrados para a correlação entre os elementos nas amostras de *B. pilosa* são mostrados na TAB. 5.2. Em geral são observadas boas correlações positivas entre os metais de transição, o que pode ser um indicativo de que esses elementos são absorvidos por meio dos mesmos mecanismos pelas plantas. Com relação aos elementos de maior interesse para este trabalho, percebe-se que o Fe apresentou correlações significativas positivas com o Mn e o V. Esses resultados podem ter ocorrido devido às características químicas destes elementos, que podem ter proporcionado a mesma forma de absorção pela planta. Por outro lado, observa-se que o Cr apresentou correlação significativa positiva apenas com o Co, já o Mg não apresentou correlação significativa com nenhum outro elemento, e para o Zn, nota-se correlação significativa positiva apenas com o Br. Sugere-se por estes resultados que o Mg é absorvido pela planta por meio de uma mecanismo diferente dos demais elementos e, ainda, que pode haver uma competição com Zn pela absorção, visto que a correlação entre os dois elementos é negativa.

Nas TAB. 5.3 e 5.4 são apresentados, respectivamente, os coeficientes de correlação determinados nas amostras de extratos aquoso e alcoólico de *B. pilosa*. Comparando-se as duas tabelas, percebe-se que as correlações encontradas, em geral, são diferentes, o que pode sugerir que a solubilidade dos elementos e do ácido clorogênico é

influenciada pelo líquido extrator. Com relação ao ácido clorogênico, nota-se que este composto apresentou correlações significativas positiva com o Br e negativa com o Mn. Apesar das correlações entre os tipos de extratos terem sido diferentes, verifica-se que, assim como nos extrato aquoso, o ácido clorogênico apresentou correlações positiva com o Br e negativa com o Mn no extrato alcoólico, embora, não significativas.

Na TAB. 5.5 são mostrados os coeficientes de correlação para os elementos analisados nas amostras de solo de *S. officinalis*. Observa-se que os pares Fe/Ca e Mn/Zn apresentaram correlações significativas positivas, sendo que estes elementos são considerados como essenciais para as plantas em geral. O vanádio apresentou correlação significativa positiva com o Br e o Ca, enquanto que o Cr e o Mg não se correlacionaram com nenhum outro elemento. Comparando-se os resultados da TAB. 5.5 com os da amostra de solo de *B. pilosa* (TAB. 5.1), percebe-se que apenas algumas correlações foram comuns. Essa diferença provavelmente ocorreu devido às alterações no canteiro de *S. officinalis* para propiciar o melhor desenvolvimento da planta.

Na TAB. 5.6 são apresentados os resultados dos coeficientes de correlação de Pearson encontrados para os elementos analisados nas amostras de plantas da espécie *S. officinalis*. Em geral as correlações ocorreram de forma parecida com as observadas para *B. pilosa*. Portanto, em geral, são observadas correlações significativas positivas entre os metais de transição, incluindo Fe, Mn e V, e que o Cr apresentou correlação significativa apenas com o Sm, sendo ela negativa, que Mg não possui correlação significativa com nenhum outro elemento, e que o Zn se correlaciona significativamente e de forma positiva apenas com o Br e o Rb. Sugere-se que estes resultados podem ser atribuídos à forma com que a planta absorve seus nutrientes. A correlação negativa entre Mg e Zn também ocorreu em *S. officinalis*, o que pode ser um indicativo de competição entre os dois nutrientes para serem absorvidos pelas plantas, porém diferentemente do que ocorreu para *B. pilosa*, acredita-se que as características da *S. officinalis*, bem como as condições empregadas no cultivo possam ter favorecido o acúmulo de Zn pela planta.

Nas TAB. 5.7 e 5.8 são apresentados, respectivamente, os coeficientes de correlação determinados nas amostras de extratos aquoso e alcoólico de *S. officinalis*. Ao analisar a TAB. 5.7, observam-se correlações positivas entre os metais alcalinos Na, Rb e Cs. Também foram observadas boas correlações entre Ca, Mg e Mn. Quanto aos compostos do metabolismo secundário, foram observadas boas correlações significativas positivas do ácido rosmarínico e da vitexina com o Zn. Na TAB. 5.8, de modo geral, nota-se que as correlações encontradas são diferentes daquelas presentes na TAB. 5.7. Isso

pode indicar que, assim como observado para *B. pilosa*, a forma como são extraídos os minerais e os compostos ativos de *S. officinalis* sofre forte influência do líquido extrator bem como do modo utilizado para a extração. Ao comparar os coeficientes de correlação encontrados nos extratos de *B. pilosa* com os dos extratos de *S. officinalis*, observa-se que não houve um padrão de resultados para os extratos aquosos, tão pouco para os extratos alcoólicos. Isso pode sugerir que a solubilidade dos elementos investigados depende também do tipo de planta que está sendo analisada.

TABELA 5.1: Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos determinados nas amostras de solo de *B. pilosa*.

	Ba	Br	Ca	Ce	Co	Cr	Cs	Eu	Fe	Hf	La	Lu	Mg	Mn	Na	Rb	Sc	Sm	Ta	Th	V	Yb	Zn	Zr	
<b>Ba</b>	1,00																								
<b>Br</b>	-0,29	1,00																							
<b>Ca</b>	0,35	0,02	1,00																						
<b>Ce</b>	0,58	-0,02	-0,15	1,00																					
<b>Co</b>	0,40	0,03	-0,06	0,45	1,00																				
<b>Cr</b>	<b>0,72</b>	-0,24	-0,09	<b>0,80</b>	<b>0,75</b>	1,00																			
<b>Cs</b>	-0,44	<b>0,77</b>	0,26	-0,28	0,15	-0,31	1,00																		
<b>Eu</b>	<b>0,70</b>	0,25	0,53	0,39	0,43	0,50	0,27	1,00																	
<b>Fe</b>	-0,39	<b>0,73</b>	0,20	-0,15	0,22	-0,15	<b>0,96</b>	0,33	1,00																
<b>Hf</b>	-0,43	<b>0,72</b>	0,03	-0,24	0,33	-0,16	<b>0,94</b>	0,25	<b>0,95</b>	1,00															
<b>La</b>	0,48	0,14	-0,05	<b>0,75</b>	0,26	<b>0,67</b>	-0,12	0,53	0,02	-0,12	1,00														
<b>Lu</b>	-0,02	0,22	0,29	-0,36	-0,13	-0,32	0,11	0,16	0,13	0,11	-0,23	1,00													
<b>Mg</b>	-0,38	0,08	0,31	-0,07	0,17	-0,10	0,38	-0,16	0,36	0,25	-0,02	-0,04	1,00												
<b>Mn</b>	0,55	-0,15	-0,39	<b>0,66</b>	0,43	<b>0,65</b>	-0,54	0,06	-0,45	-0,37	0,25	-0,09	-0,47	1,00											
<b>Na</b>	0,61	-0,56	0,15	0,10	0,13	0,22	-0,65	0,06	<b>-0,77</b>	-0,64	-0,25	-0,23	-0,42	0,45	1,00										
<b>Rb</b>	0,53	0,09	0,23	-0,15	0,04	0,00	-0,14	0,38	-0,27	-0,13	-0,16	0,27	<b>-0,66</b>	0,29	0,66	1,00									
<b>Sc</b>	-0,29	<b>0,74</b>	0,19	-0,13	0,29	-0,08	<b>0,94</b>	0,41	<b>0,99</b>	<b>0,96</b>	0,03	0,17	0,25	-0,36	<b>-0,69</b>	-0,14	1,00								
<b>Sm</b>	0,02	0,55	0,12	0,31	0,40	0,35	0,61	0,60	<b>0,75</b>	<b>0,63</b>	<b>0,65</b>	0,02	0,31	-0,22	<b>-0,75</b>	-0,33	<b>0,75</b>	1,00							
<b>Ta</b>	-0,46	0,46	0,01	-0,20	0,19	-0,20	<b>0,78</b>	0,23	<b>0,82</b>	<b>0,82</b>	-0,02	0,18	0,37	-0,57	<b>-0,71</b>	-0,41	<b>0,79</b>	<b>0,66</b>	1,00						
<b>Th</b>	0,02	0,54	0,06	0,43	0,32	0,39	0,54	0,52	<b>0,68</b>	0,53	<b>0,74</b>	-0,16	0,30	-0,15	<b>-0,77</b>	-0,40	<b>0,66</b>	<b>0,97</b>	0,52	1,00					
<b>V</b>	0,41	-0,08	<b>0,65</b>	0,13	0,30	0,26	-0,02	0,25	0,00	-0,11	-0,07	0,28	0,33	0,24	0,24	0,14	0,02	-0,04	-0,33	-0,06	1,00				
<b>Yb</b>	0,31	0,39	0,52	0,09	0,40	0,14	0,50	<b>0,78</b>	0,54	0,49	0,12	0,57	0,10	-0,13	-0,13	0,22	0,60	0,53	0,57	0,35	0,29	1,00			
<b>Zn</b>	<b>0,87</b>	-0,13	-0,11	0,44	0,27	0,53	-0,52	0,47	-0,50	-0,40	0,30	0,11	<b>-0,78</b>	<b>0,70</b>	0,71	<b>0,75</b>	-0,36	-0,18	-0,49	-0,20	-0,01	0,19	1,00		
<b>Zr</b>	-0,41	<b>0,83</b>	-0,08	-0,30	0,19	-0,24	<b>0,86</b>	0,21	<b>0,85</b>	<b>0,93</b>	-0,11	0,26	0,01	-0,26	-0,58	0,08	<b>0,89</b>	0,55	<b>0,67</b>	0,45	-0,18	0,43	-0,22	1,00	

TABELA 5.2: Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos determinados nas amostras *B. pilosa*.

	Ba	Br	Ca	Ce	Co	Cr	Cs	Eu	Fe	Hf	La	Lu	Mg	Mn	Na	Rb	Sc	Sm	Ta	Th	V	Yb	Zn	Zr	
<b>Ba</b>	1,00																								
<b>Br</b>	0,27	1,00																							
<b>Ca</b>	-0,30	0,31	1,00																						
<b>Ce</b>	0,70	-0,12	-0,65	1,00																					
<b>Co</b>	0,68	0,45	-0,52	0,76	1,00																				
<b>Cr</b>	0,26	0,51	-0,24	0,50	0,81	1,00																			
<b>Cs</b>	0,88	0,14	-0,61	0,87	0,81	0,47	1,00																		
<b>Eu</b>	0,61	-0,21	-0,48	0,57	0,26	0,03	0,72	1,00																	
<b>Fe</b>	0,77	0,08	-0,70	0,90	0,89	0,49	0,95	0,55	1,00																
<b>Hf</b>	0,62	-0,02	-0,58	0,90	0,92	0,52	0,79	0,31	0,92	1,00															
<b>La</b>	0,75	0,02	-0,60	0,96	0,89	0,53	0,89	0,43	0,95	0,96	1,00														
<b>Lu</b>	0,80	0,40	-0,50	0,73	0,81	0,66	0,90	0,47	0,88	0,74	0,84	1,00													
<b>Mg</b>	-0,18	-0,18	-0,20	0,03	-0,46	-0,14	-0,04	0,39	-0,14	-0,29	-0,15	-0,22	1,00												
<b>Mn</b>	0,73	0,27	-0,35	0,42	0,70	0,14	0,68	0,21	0,70	0,55	0,61	0,85	-0,43	1,00											
<b>Na</b>	-0,49	-0,55	-0,05	-0,33	-0,19	-0,37	-0,29	0,11	-0,32	-0,28	-0,37	-0,36	-0,08	-0,32	1,00										
<b>Rb</b>	0,07	0,34	-0,70	0,39	0,51	0,53	0,35	0,08	0,49	0,49	0,41	0,14	0,10	0,09	-0,03	1,00									
<b>Sc</b>	0,78	0,06	-0,68	0,91	0,90	0,48	0,95	0,56	1,00	0,92	0,96	0,90	-0,13	0,69	-0,32	0,46	1,00								
<b>Sm</b>	0,71	-0,04	-0,59	0,97	0,87	0,56	0,86	0,42	0,92	0,96	0,99	0,81	-0,16	0,54	-0,33	0,37	0,93	1,00							
<b>Ta</b>	0,80	0,42	-0,41	0,71	0,55	0,52	0,88	0,79	0,75	0,53	0,69	0,81	0,34	0,52	-0,42	0,12	0,77	0,65	1,00						
<b>Th</b>	0,78	0,02	-0,62	0,96	0,89	0,51	0,93	0,51	0,97	0,95	0,99	0,87	-0,11	0,62	-0,35	0,41	0,98	0,98	0,75	1,00					
<b>V</b>	0,76	-0,07	-0,58	0,86	0,39	0,25	0,85	0,83	0,77	0,59	0,74	0,63	0,55	0,31	-0,42	0,25	0,78	0,72	0,92	0,78	1,00				
<b>Yb</b>	0,46	0,00	-0,61	0,70	0,88	0,44	0,65	0,09	0,84	0,91	0,83	0,74	-0,45	0,69	-0,22	0,46	0,84	0,81	0,33	0,81	0,35	1,00			
<b>Zn</b>	0,15	0,68	0,56	-0,36	0,27	0,02	-0,11	-0,48	-0,12	-0,06	-0,12	0,07	-0,54	0,32	-0,13	0,00	-0,11	-0,17	-0,12	-0,13	-0,45	0,03	1,00		
<b>Zr</b>	0,85	-0,05	-0,79	0,74	0,79	0,13	0,88	0,68	0,87	0,70	0,78	0,82	-0,15	0,85	-0,13	0,50	0,87	0,73	0,68	0,81	0,73	0,66	-0,12	1,00	

TABELA 5.3: Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos e do ácido clorogênico (AC) determinados nas amostras de extrato aquoso de *B. pilosa*.

	Ba	Br	Ca	Co	Cr	Cs	Eu	Fe	La	Mg	Mn	Na	Rb	Sc	Zn	AC
<b>Ba</b>	1,00															
<b>Br</b>	-0,38	1,00														
<b>Ca</b>	-0,75	0,05	1,00													
<b>Co</b>	<b>0,88</b>	-0,08	-0,08	1,00												
<b>Cr</b>	0,43	-0,09	-0,62	0,30	1,00											
<b>Cs</b>	-0,46	0,12	0,33	0,10	-0,01	1,00										
<b>Eu</b>	ND	-0,42	0,33	0,97	0,24	-0,26	1,00									
<b>Fe</b>	-0,29	0,24	0,54	0,17	-0,54	0,67	<b>1,00</b>	1,00								
<b>La</b>	0,81	-0,01	-0,51	<b>0,94</b>	0,18	0,17	ND	0,28	1,00							
<b>Mg</b>	0,24	-0,31	0,14	-0,10	-0,48	-0,21	0,23	0,17	0,21	1,00						
<b>Mn</b>	0,39	-0,07	<b>0,68</b>	0,60	-0,08	0,56	<b>1,00</b>	0,61	0,80	-0,02	1,00					
<b>Na</b>	-0,16	0,47	<b>0,77</b>	0,29	-0,16	0,50	0,56	<b>0,69</b>	0,27	0,00	<b>0,75</b>	1,00				
<b>Rb</b>	-0,41	0,40	0,55	-0,06	-0,23	0,34	0,21	<b>0,70</b>	-0,18	0,09	0,27	<b>0,70</b>	1,00			
<b>Sc</b>	-0,12	0,12	0,46	0,45	-0,25	<b>0,81</b>	0,91	<b>0,92</b>	0,50	-0,19	<b>0,78</b>	<b>0,69</b>	0,60	1,00		
<b>Zn</b>	-0,22	0,39	-0,09	-0,15	0,12	0,39	-0,61	0,04	-0,07	0,23	-0,14	0,21	0,28	0,10	1,00	
<b>AC</b>	-0,48	<b>0,68</b>	-0,56	-0,24	0,32	-0,25	-0,54	-0,36	-0,40	-0,44	<b>-0,67</b>	-0,22	-0,01	-0,37	0,29	1,00

ND = Valor não determinado



TABELA 5.4: Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos e do ácido clorogênico (AC) determinados nas amostras de extrato alcoólico de *B. pilosa*.

	<b>Br</b>	<b>Ca</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Eu</b>	<b>Fe</b>	<b>Lu</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>	<b>Sc</b>	<b>Zn</b>	<b>AC</b>
<b>Br</b>	1,00														
<b>Ca</b>	0,21	1,00													
<b>Co</b>	-0,30	-0,16	1,00												
<b>Cr</b>	-0,35	-0,47	0,05	1,00											
<b>Cs</b>	-0,46	0,41	0,50	0,08	1,00										
<b>Eu</b>	-0,14	-0,10	-0,49	<b>0,77</b>	-0,14	1,00									
<b>Fe</b>	-0,61	-0,14	0,34	<b>0,66</b>	0,35	0,43	1,00								
<b>Lu</b>	0,62	-0,08	-0,35	<b>0,97</b>	-0,23	<b>0,99</b>	0,61	1,00							
<b>Mg</b>	0,22	0,30	-0,01	-0,21	0,33	-0,40	-0,56	-0,42	1,00						
<b>Mn</b>	0,14	-0,19	0,06	0,28	0,02	-0,51	0,19	-0,48	0,18	1,00					
<b>Na</b>	0,36	<b>0,89</b>	-0,22	-0,25	0,42	0,07	-0,22	0,10	0,52	-0,08	1,00				
<b>Rb</b>	-0,37	0,62	0,35	-0,42	<b>0,83</b>	-0,45	0,06	-0,55	0,28	-0,14	0,42	1,00			
<b>Sc</b>	0,18	0,22	0,10	0,59	0,35	-0,14	0,71	0,46	-0,03	0,21	0,31	0,10	1,00		
<b>Zn</b>	-0,50	0,42	0,57	-0,23	<b>0,87</b>	-0,52	0,16	-0,75	0,41	-0,14	0,34	<b>0,86</b>	0,22	1,00	
<b>AC</b>	0,50	-0,09	0,11	-0,17	-0,25	-0,37	-0,36	-0,05	0,25	-0,25	0,12	-0,37	0,35	-0,05	1,00

TABELA 5.5: Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos determinados nas amostras de solo de *S.officinalis*.

	Ba	Br	Ca	Ce	Co	Cr	Cs	Eu	Fe	Hf	La	Lu	Mg	Mn	Na	Rb	Sc	Sm	Ta	Th	V	Yb	Zn	Zr	
<b>Ba</b>	1,00																								
<b>Br</b>	-0,49	1,00																							
<b>Ca</b>	-0,56	0,75	1,00																						
<b>Ce</b>	0,23	0,14	0,34	1,00																					
<b>Co</b>	0,82	-0,28	-0,18	0,23	1,00																				
<b>Cr</b>	-0,10	0,32	0,62	0,40	0,29	1,00																			
<b>Cs</b>	-0,42	0,54	0,79	0,06	0,02	0,43	1,00																		
<b>Eu</b>	0,06	0,31	0,23	0,75	-0,13	0,35	-0,13	1,00																	
<b>Fe</b>	-0,57	0,60	0,68	0,19	-0,36	0,31	0,74	0,25	1,00																
<b>Hf</b>	0,58	-0,25	-0,17	0,33	0,51	0,21	0,12	0,35	0,20	1,00															
<b>La</b>	-0,25	0,51	0,70	0,80	-0,14	0,42	0,48	0,71	0,63	0,23	1,00														
<b>Lu</b>	-0,27	0,23	0,41	-0,02	-0,19	0,05	0,66	-0,05	0,52	0,18	0,27	1,00													
<b>Mg</b>	-0,07	0,20	0,37	0,12	0,24	0,49	0,31	-0,10	-0,10	-0,24	0,00	0,36	1,00												
<b>Mn</b>	-0,06	0,77	0,51	0,24	0,12	0,51	0,25	0,38	0,12	-0,18	0,30	0,07	0,59	1,00											
<b>Na</b>	-0,76	0,66	0,66	-0,06	-0,54	0,14	0,39	-0,06	0,58	-0,61	0,25	0,12	0,05	0,26	1,00										
<b>Rb</b>	0,01	-0,35	-0,24	0,23	0,02	0,27	-0,11	0,30	0,24	0,49	0,09	-0,11	-0,14	-0,34	-0,22	1,00									
<b>Sc</b>	-0,12	0,52	0,45	0,51	-0,12	0,34	0,38	0,66	0,80	0,50	0,68	0,33	-0,18	0,26	0,29	0,35	1,00								
<b>Sm</b>	-0,27	0,48	0,67	0,70	-0,18	0,27	0,50	0,60	0,49	0,12	0,94	0,38	0,11	0,30	0,15	-0,10	0,47	1,00							
<b>Ta</b>	-0,08	0,53	0,55	0,79	0,01	0,62	0,28	0,82	0,58	0,32	0,80	0,14	0,17	0,51	0,25	0,35	0,84	0,61	1,00						
<b>Th</b>	-0,06	-0,12	0,18	0,48	0,00	0,02	0,41	0,23	0,57	0,54	0,59	0,32	-0,29	-0,46	-0,08	0,51	0,50	0,52	0,36	1,00					
<b>V</b>	-0,43	0,71	0,65	0,33	-0,26	0,11	0,54	0,19	0,55	-0,30	0,52	0,55	0,49	0,53	0,61	-0,25	0,45	0,55	0,51	0,15	1,00				
<b>Yb</b>	-0,43	0,55	0,53	-0,05	-0,32	0,10	0,67	0,06	0,54	-0,03	0,33	0,90	0,46	0,41	0,26	-0,25	0,34	0,47	0,23	0,10	0,70	1,00			
<b>Zn</b>	-0,50	0,88	0,61	-0,08	-0,45	0,26	0,34	0,34	0,43	-0,28	0,35	0,19	0,05	0,70	0,53	-0,43	0,38	0,36	0,34	-0,34	0,43	0,51	1,00		
<b>Zr</b>	0,24	0,15	0,46	0,62	0,50	0,50	0,26	0,24	0,07	0,20	0,54	-0,30	-0,06	0,17	0,04	-0,12	0,15	0,43	0,37	0,26	-0,01	-0,34	-0,02	1,00	

TABELA 5.6: Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos determinados nas amostras de *S. officinalis*.

	Ba	Br	Ca	Ce	Co	Cr	Cs	Eu	Fe	Hf	La	Lu	Mg	Mn	Na	Rb	Sc	Sm	Th	V	Yb	Zn	
<b>Ba</b>	1,00																						
<b>Br</b>	-0,10	1,00																					
<b>Ca</b>	0,12	0,02	1,00																				
<b>Ce</b>	0,08	0,15	0,09	1,00																			
<b>Co</b>	0,11	0,15	0,27	0,94	1,00																		
<b>Cr</b>	-0,12	0,47	0,50	-0,36	-0,34	1,00																	
<b>Cs</b>	0,21	-0,29	0,49	-0,01	0,08	-0,26	1,00																
<b>Eu</b>	-0,02	0,15	0,47	0,84	0,79	0,19	-0,16	1,00															
<b>Fe</b>	0,16	0,27	0,20	0,97	0,94	0,01	-0,06	0,80	1,00														
<b>Hf</b>	-0,24	0,11	-0,03	0,93	0,86	-0,19	-0,20	0,77	0,88	1,00													
<b>La</b>	0,08	0,07	0,21	0,95	0,96	-0,36	-0,06	0,81	0,94	0,89	1,00												
<b>Lu</b>	-0,11	0,10	0,26	0,95	0,99	-0,34	0,01	0,92	0,92	0,95	0,97	1,00											
<b>Mg</b>	0,42	-0,53	0,20	0,40	0,46	-0,16	0,09	0,21	0,38	0,32	0,53	0,62	1,00										
<b>Mn</b>	0,10	0,07	-0,15	0,82	0,79	-0,47	0,05	0,38	0,80	0,79	0,81	0,95	0,57	1,00									
<b>Na</b>	0,30	-0,08	0,68	0,63	0,69	0,09	0,54	0,49	0,72	0,50	0,70	0,77	0,52	0,56	1,00								
<b>Rb</b>	-0,13	0,28	-0,57	-0,69	-0,75	0,16	-0,50	-0,73	-0,67	-0,58	-0,72	-0,80	-0,41	-0,42	-0,83	1,00							
<b>Sc</b>	0,08	0,38	0,16	0,94	0,89	0,38	-0,15	0,78	0,99	0,88	0,89	0,87	0,28	0,77	0,67	-0,58	1,00						
<b>Sm</b>	0,00	-0,08	-0,04	0,91	0,91	-0,72	0,00	0,71	0,83	0,90	0,93	0,96	0,53	0,85	0,51	-0,64	0,77	1,00					
<b>Th</b>	0,07	0,16	0,13	0,99	0,96	-0,43	-0,02	0,82	0,97	0,92	0,98	0,96	0,42	0,83	0,66	-0,69	0,94	0,92	1,00				
<b>V</b>	0,20	0,22	0,60	0,93	0,87	0,55	0,38	0,81	0,95	0,84	0,89	0,86	0,41	0,72	0,94	-0,84	0,93	0,74	0,91	1,00			
<b>Yb</b>	-0,10	0,20	0,07	0,68	0,73	-0,09	-0,43	0,80	0,64	0,71	0,74	0,74	0,23	0,41	0,11	-0,37	0,62	0,73	0,70	0,42	1,00		
<b>Zn</b>	-0,12	0,72	-0,08	-0,34	-0,29	0,58	-0,64	-0,30	-0,20	-0,26	-0,34	-0,34	-0,42	-0,26	-0,42	0,69	-0,08	-0,45	-0,32	-0,29	0,00	1,00	

TABELA 5.7: Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos, do ácido rosmarínico (AR) e da vitexina (Vit.) determinados nas amostras de extrato aquoso de *S. officinalis*.

	Ba	Br	Ca	Co	Cr	Cs	Mg	Mn	Na	Rb	Sc	Zn	AR	Vit.
<b>Ba</b>	1,00													
<b>Br</b>	0,91	1,00												
<b>Ca</b>	0,98	-0,81	1,00											
<b>Co</b>	0,27	0,31	-0,03	1,00										
<b>Cr</b>	0,78	0,72	-0,81	0,37	1,00									
<b>Cs</b>	0,29	0,98	-0,80	0,39	0,72	1,00								
<b>Mg</b>	0,83	-0,32	0,71	0,01	-0,46	-0,32	1,00							
<b>Mn</b>	0,21	-0,35	0,76	0,40	-0,43	-0,28	0,77	1,00						
<b>Na</b>	-0,95	0,76	-0,63	0,03	0,59	0,73	-0,04	-0,19	1,00					
<b>Rb</b>	-0,72	0,66	-0,27	0,43	0,10	0,72	0,22	0,27	0,65	1,00				
<b>Sc</b>	0,07	0,17	0,20	0,63	0,10	0,26	0,43	0,70	0,17	0,52	1,00			
<b>Zn</b>	-1,00	0,13	-0,17	0,24	0,08	0,05	-0,08	-0,23	0,06	0,03	-0,07	1,00		
<b>AR</b>	ND	0,14	-0,24	0,06	0,16	-0,05	-0,35	-0,68	-0,30	-0,29	-0,29	0,91	1,00	
<b>Vit.</b>	-0,96	0,07	-0,14	0,44	-0,03	0,05	-0,16	-0,07	0,01	0,04	-0,09	0,79	0,37	1,00

ND = Valor não determinado

TABELA 5.8: Coeficiente de correlação de Pearson obtido para as concentrações dos elementos, do ácido rosmarínico (AR) e da vitexina (Vit.) determinados nas amostras de extrato alcoólico de *S. officinalis*.

	<b>Br</b>	<b>Ca</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Eu</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>	<b>Zn</b>	<b>AR</b>	<b>Vit.</b>
<b>Br</b>	1,00												
<b>Ca</b>	-0,51	1,00											
<b>Co</b>	-0,68	0,38	1,00										
<b>Cr</b>	-0,89	0,95	0,88	1,00									
<b>Cs</b>	0,84	-0,54	-0,40	ND	1,00								
<b>Eu</b>	-0,08	-0,31	0,43	-0,45	0,36	1,00							
<b>Mg</b>	-0,20	0,05	0,60	0,97	-0,09	0,37	1,00						
<b>Mn</b>	-0,62	0,54	0,85	0,85	-0,53	0,33	0,54	1,00					
<b>Na</b>	0,81	-0,45	-0,77	-0,81	0,70	-0,05	-0,09	-0,64	1,00				
<b>Rb</b>	0,59	-0,43	-0,49	-0,57	0,86	0,20	-0,38	-0,40	0,60	1,00			
<b>Zn</b>	-0,74	0,45	0,74	0,61	-0,63	0,33	0,39	0,86	-0,69	-0,26	1,00		
<b>AR</b>	0,02	0,31	-0,24	ND	0,54	0,05	-0,18	0,76	0,08	0,87	0,76	1,00	
<b>Vit.</b>	0,88	-0,54	-0,51	-1,00	0,64	-0,06	-0,07	-0,48	0,69	0,49	-0,69	-0,12	1,00

ND = Valor não determinado

## 6 CONCLUSÕES

O uso de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis* é uma medida complementar ao tratamento do diabetes e essa prática visa contribuir para a melhor qualidade de vida do paciente diabético, que não deve interromper o uso de medicação alopática, prática de atividades físicas e reeducação alimentar. Este trabalho contribuiu para o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos do Ministério da Saúde, que incluiu *B. pilosa* na lista de plantas com potencial terapêutico de interesse para o SUS.

O cultivo das plantas por meio de um tratamento simples e outro com adição da solução de sais de Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn gerou amostras de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis* viáveis para a realização do trabalho.

Em relação às características físicas analisadas, observaram-se diferenças apenas entre as amostras de *B. pilosa*. As observações indicaram que o grupo de plantas tratadas com os nutrientes apresentou folhas maiores tanto em comprimento quanto em largura, enquanto que o grupo de plantas não tratadas apresentou a altura mais elevada.

Com relação ao pH do solo, os resultados indicaram que seu valor deve ser próximo de 6 para o cultivo de *S. officinalis*, pois quando o valor é próximo de 7 o desenvolvimento da planta pode ser comprometido. Para *B. pilosa*, no entanto os resultados indicaram que a planta se desenvolve em solos com valor de pH próximo a 7.

Para atender ao objetivo central do trabalho que foi determinar as concentrações dos elementos Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn em *Salvia officinalis* e *Bidens pilosa*, e avaliar sua influência na produção de metabólitos secundários que podem atuar como agentes hipoglicêmicos, foram utilizadas a técnica de Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA), que mostrou sensibilidade adequada para a determinação das concentrações da maior parte dos elementos presentes em amostras de solo, planta e extratos, e a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), que foi adequada para determinar os compostos analisados.

As concentrações elementares observadas para *B. pilosa* indicam que a planta pode ser usada como uma fonte de Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn. A análise dos extratos aquoso e alcoólico dessa espécie revelou que vanádio foi o único elemento que não esteve presente em quantidade que pudesse ser medida pela técnica de INAA. Os elementos Cr, Fe, Mg, Mn, V e Zn também foram quantificados em folhas de *S. officinalis*, que são comumente

empregadas na culinária e, portanto, podem contribuir como fonte desses nutrientes. Nos extratos não foram encontradas concentrações mensuráveis de Fe e V.

Comparando os grupos controle e tratamento quanto à concentração dos elementos foi observado que amostras de plantas da espécie *B. pilosa* do grupo tratamento apresentaram concentrações de Fe muito mais elevadas do que as amostras do grupo controle. Isso indica que a planta possui grande afinidade por este elemento. Desta forma, sugere-se que se deve evitar a adição de ferro para cultivo desta espécie se utilizada com finalidade de tratamento do DM.

A análise do fator de transferência indicou que os elementos Mg, Mn e Zn foram absorvidos em maiores quantidades pelas plantas, sendo que para *S. officinalis* o resultado do FT para o Zn foi superior a 100%, por isso sugere-se que a planta é uma potencial acumuladora desse nutriente. Apesar de ter sido encontrado em altas concentrações em amostras de plantas da espécie *B. pilosa* do grupo tratamento, o ferro foi transferido para os extratos desta espécie em quantidades inferiores a 1%, no entanto o cuidado com a ingestão desse nutriente não deve ser descartado. A análise do fator de transferência permitiu ainda observar que os valores de FT obtidos para os extratos aquosos foram predominantemente superiores aos valores de FT para os extratos alcoólicos.

Comparando os grupos controle e tratamento em relação à produção dos compostos do metabolismo secundário investigados, os resultados indicaram que a adição da solução de micronutrientes aparentemente contribuiu para a diminuição da produção do ácido clorogênico pelas plantas da espécie *B. pilosa* tanto no extrato aquoso quanto no extrato alcoólico e para o maior rendimento de vitexina no extrato alcoólico de *S. officinalis*.

Os resultados obtidos por meio da análise de correlação sugerem que as plantas analisadas apresentam mecanismo de absorção semelhante para os metais de transição, incluindo Fe, Mn e V. Sugere-se ainda que pode haver uma competição pela absorção entre Mg e Zn, pois para ambas as espécies foram observadas correlações negativa entre os dois elementos, porém esses resultados não foram significativos.

Foi demonstrado neste estudo que *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis* contêm minerais e metabólitos que podem estar associados aos efeitos antidiabéticos atribuídos às plantas. Além do ácido clorogênico, ácido rosmarínico e vitexina, existem outros metabólitos com possível ação antidiabética presentes nas espécies estudadas que devem ser investigados. Estudos futuros são requeridos para avaliar qual a proporção em que estes

minerais e metabólitos devem estar disponíveis ao organismo humano e se contribuem de fato para melhorar a qualidade de vida do paciente diabético.



APÊNDICE A - Tabela geral dos elementos determinados, suas concentrações e incertezas, nas amostras de solo, planta e extratos referentes à *Bidens pilosa*, por meio da técnica de INAA.

TABELA A.1: Concentrações e incertezas dos elementos determinados no solo de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por %.

<b>Amostras</b>	<b>Ba</b>	<b>Br</b>	<b>Ca(%)</b>	<b>Ce</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Eu</b>
<b>SBC-P</b>	167 ±13	16,1 ±0,4	1,00 ±0,08	59 ±2	3,29 ±0,05	59 ±2	4,4 ±0,3	0,58 ±0,02
<b>SBC-1</b>	169 ±13	16,2 ±0,3	1,5 ±0,1	58 ±2	4,15 ±0,06	112 ±3	3,9 ±0,2	0,67 ±0,02
<b>SBC-2</b>	150 ±11	14,6 ±0,3	1,27 ±0,09	57 ±2	4,54 ±0,06	115 ±3	3,5 ±0,2	0,63 ±0,02
<b>SBC-3</b>	144 ±13	16,7 ±0,4	1,5 ±0,1	48 ±2	4,30 ±0,06	107 ±3	3,8 ±0,2	0,59 ±0,02
<b>SBC-4</b>	139 ±11	19,4 ±0,5	1,21 ±0,09	65 ±2	4,18 ±0,06	106 ±3	4,2 ±0,3	0,67 ±0,02
<b>SBC-5</b>	220 ±16	18,5 ±0,5	1,5 ±0,1	64 ±2	4,94 ±0,06	122 ±3	4,6 ±0,3	0,80 ±0,02
<b>Média</b>	164	17,1	1,38	58	4,42	112	4,0	0,67
<b>DP</b>	33	1,9	0,14	7	0,33	7	0,4	0,08
<b>CV</b>	20	11	10	12	7	6	10	12
<b>SBT-P</b>	225 ±17	17,4 ±0,6	1,03 ±0,08	64 ±3	2,91 ±0,04	55 ±1	3,4 ±0,2	0,52 ±0,02
<b>SBT-1</b>	218 ±16	15,1 ±0,4	1,3 ±0,1	82 ±2	4,60 ±0,05	121 ±3	2,9 ±0,1	0,62 ±0,03
<b>SBT-2</b>	192 ±14	16,0 ±0,4	1,4 ±0,1	53 ±3	4,17 ±0,05	109 ±3	2,8 ±0,1	0,62 ±0,03
<b>SBT-3</b>	263 ±19	15,4 ±0,5	1,7 ±0,1	59 ±3	4,28 ±0,05	113 ±3	3,4 ±0,2	0,80 ±0,03
<b>SBT-4</b>	267 ±19	16,0 ±0,5	1,4 ±0,1	98 ±5	4,60 ±0,05	132 ±3	2,9 ±0,1	0,77 ±0,03
<b>SBT-5</b>	211 ±15	14,9 ±0,5	1,16 ±0,09	56 ±3	4,42 ±0,05	118 ±3	2,9 ±0,1	0,64 ±0,03
<b>Média</b>	230	15,5	1,37	70	4,42	119	3,0	0,69
<b>DP</b>	33	0,5	0,19	20	0,19	9	0,2	0,09
<b>CV</b>	14	3	14	28	4	7	8	13

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

Continuação TABELA A.1.

<b>Amostras</b>	<b>Fe(%)</b>	<b>Hf</b>	<b>La</b>	<b>Lu</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>
<b>SBC-P</b>	4,95 ±0,05	14,4 ±0,2	30,0 ±0,6	0,50 ±0,02	17715 ±2241	193 ±3	655 ±21	20 ±1
<b>SBC-1</b>	4,89 ±0,05	13,6 ±0,2	30,3 ±0,6	0,53 ±0,02	16028 ±1440	158 ±2	603 ±20	21 ±1
<b>SBC-2</b>	4,51 ±0,05	13,8 ±0,2	30,0 ±0,6	0,60 ±0,02	19842 ±1470	153 ±2	639 ±21	18 ±1
<b>SBC-3</b>	4,32 ±0,05	12,8 ±0,1	28,1 ±0,5	0,44 ±0,02	22871 ±1541	148 ±2	753 ±29	24 ±1
<b>SBC-4</b>	4,97 ±0,05	15,6 ±0,2	33,9 ±0,6	0,59 ±0,02	12111 ±1231	164 ±3	574 ±29	25 ±2
<b>SBC-5</b>	5,43 ±0,06	18,0 ±0,2	32,9 ±0,6	0,74 ±0,03	16392 ±1400	177 ±2	703 ±32	29 ±2
<b>Média</b>	4,82	14,8	31,0	0,58	17449	160	654	23
<b>DP</b>	0,43	2,1	2,3	0,11	4085	11	73	4
<b>CV</b>	9	14	7	19	23	7	11	17
<b>SBT-P</b>	3,88 ±0,04	11,3 ±0,2	33,5 ±0,6	0,50 ±0,02	16946 ±1259	228 ±3	1105 ±67	29 ±1
<b>SBT-1</b>	3,65 ±0,04	10,4 ±0,2	26,3 ±0,5	0,44 ±0,01	14646 ±1738	202 ±2	1024 ±37	25 ±1
<b>SBT-2</b>	3,63 ±0,04	9,7 ±0,2	28,7 ±0,8	0,97 ±0,03	12981 ±1161	180 ±2	ND	28 ±1
<b>SBT-3</b>	3,98 ±0,04	10,9 ±0,2	30,8 ±0,6	0,67 ±0,02	12191 ±443	158 ±2	1030 ±40	32 ±2
<b>SBT-4</b>	3,97 ±0,04	10,1 ±0,2	54 ±1	0,43 ±0,01	15608 ±1787	188 ±3	723 ±43	23 ±1
<b>SBT-5</b>	3,65 ±0,04	11,4 ±0,2	30,4 ±0,6	0,39 ±0,01	6262 ±1069	182 ±2	949 ±56	30 ±1
<b>Média</b>	3,78	10,5	34,0	0,58	12337	182	931	27
<b>DP</b>	0,18	0,7	11,3	0,24	3653	16	144	4
<b>CV</b>	5	6	33	42	30	9	15	13

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

ND = Valor não determinado

Continuação TABELA A.1.

<b>Amostras</b>	<b>Sc</b>	<b>Sm</b>	<b>Ta</b>	<b>Th</b>	<b>V</b>	<b>Yb</b>	<b>Zn</b>	<b>Zr</b>
<b>SBC-P</b>	13,61 ±0,07	5,3 ±0,3	1,82 ±0,06	30 ±2	110 ±4	2,4 ±0,2	142 ±12	450 ±24
<b>SBC-1</b>	13,56 ±0,07	5,3 ±0,3	1,68 ±0,06	25 ±1	92 ±7	2,7 ±0,2	110 ±10	479 ±20
<b>SBC-2</b>	12,61 ±0,06	5,4 ±0,3	2,19 ±0,07	23 ±1	49 ±2	3,1 ±0,2	122 ±11	453 ±20
<b>SBC-3</b>	12,06 ±0,06	4,6 ±0,2	1,53 ±0,05	22 ±1	83 ±3	2,3 ±0,2	104 ±9	455 ±20
<b>SBC-4</b>	13,90 ±0,07	5,6 ±0,3	2,02 ±0,07	26 ±1	27 ±3	3,1 ±0,2	ND	607 ±23
<b>SBC-5</b>	15,48 ±0,07	6,4 ±0,3	1,99 ±0,07	28 ±2	106 ±7	4,1 ±0,3	188 ±16	653 ±25
<b>Média</b>	13,52	5,5	1,88	24,8	71	3,0	131	529
<b>DP</b>	1,32	0,7	0,27	2,4	32	0,7	38	94
<b>CV</b>	10	12	14	10	45	22	29	18
<b>SBT-P</b>	11,47 ±0,06	4,4 ±0,2	1,53 ±0,05	23 ±1	24 ±4	2,5 ±0,2	232 ±6	429 ±17
<b>SBT-1</b>	10,85 ±0,05	3,5 ±0,1	1,28 ±0,04	17 ±1	95 ±4	2,6 ±0,2	199 ±5	360 ±15
<b>SBT-2</b>	10,89 ±0,05	4,0 ±0,2	1,31 ±0,04	17 ±1	92 ±8	2,9 ±0,2	193 ±5	427 ±17
<b>SBT-3</b>	11,71 ±0,06	4,5 ±0,2	1,58 ±0,05	19 ±1	83 ±4	3,7 ±0,3	219 ±6	391 ±17
<b>SBT-4</b>	11,59 ±0,06	6,3 ±0,2	1,43 ±0,05	31 ±2	79 ±2	2,9 ±0,2	210 ±17	372 ±16
<b>SBT-5</b>	11,16 ±0,05	4,1 ±0,2	1,30 ±0,04	19 ±1	43 ±5	2,0 ±0,1	221 ±6	461 ±17
<b>Média</b>	11,24	4,5	1,38	20	78	2,8	208	402
<b>DP</b>	0,39	1,1	0,13	6	21	0,6	12	42
<b>CV</b>	4	24	9	28	27	21	6	10

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

ND = Valor não determinado

TABELA A.2: Concentrações e incertezas de elementos determinados em plantas de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por %.

<b>Amostras</b>	<b>Ba</b>	<b>Br</b>	<b>Ca(%)</b>	<b>Ce</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Eu</b>
<b>BC-1</b>	18 $\pm$ 3	2,53 $\pm$ 0,06	1,07 $\pm$ 0,09	1,21 $\pm$ 0,07	0,16 $\pm$ 0,01	3,1 $\pm$ 0,1	0,20 $\pm$ 0,02	0,034 $\pm$ 0,003
<b>BC-2</b>	21 $\pm$ 3	3,51 $\pm$ 0,08	1,1 $\pm$ 0,1	1,10 $\pm$ 0,07	0,18 $\pm$ 0,01	3,0 $\pm$ 0,1	0,17 $\pm$ 0,02	0,018 $\pm$ 0,003
<b>BC-3</b>	9 $\pm$ 2	3,4 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,1	1,09 $\pm$ 0,07	0,14 $\pm$ 0,01	3,3 $\pm$ 0,1	0,15 $\pm$ 0,02	0,016 $\pm$ 0,002
<b>BC-4</b>	30 $\pm$ 3	2,97 $\pm$ 0,09	1,5 $\pm$ 0,1	1,71 $\pm$ 0,08	0,13 $\pm$ 0,01	3,2 $\pm$ 0,1	0,18 $\pm$ 0,02	0,023 $\pm$ 0,002
<b>BC-5</b>	21 $\pm$ 3	4,6 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,1	1,12 $\pm$ 0,07	ND	6,0 $\pm$ 0,2	0,21 $\pm$ 0,02	0,016 $\pm$ 0,003
<b>Média</b>	20	3,39	1,25	1,25	0,15	3,7	0,18	0,021
<b>DP</b>	7	0,76	0,19	0,26	0,02	1,3	0,02	0,008
<b>CV</b>	38	22	15	21	13	34	13	35
<b>BT-1</b>	ND	2,95 $\pm$ 0,06	0,32 $\pm$ 0,02	2,1 $\pm$ 0,1	0,14 $\pm$ 0,01	3,7 $\pm$ 0,2	0,25 $\pm$ 0,04	<LD
<b>BT-2</b>	37 $\pm$ 5	3,48 $\pm$ 0,08	0,36 $\pm$ 0,02	2,0 $\pm$ 0,1	0,25 $\pm$ 0,01	4,0 $\pm$ 0,2	0,32 $\pm$ 0,05	0,024 $\pm$ 0,004
<b>BT-3</b>	68 $\pm$ 6	3,79 $\pm$ 0,08	0,66 $\pm$ 0,04	3,3 $\pm$ 0,2	0,25 $\pm$ 0,01	4,5 $\pm$ 0,2	0,48 $\pm$ 0,07	0,057 $\pm$ 0,006
<b>BT-4</b>	14 $\pm$ 4	2,71 $\pm$ 0,07	0,28 $\pm$ 0,02	2,4 $\pm$ 0,1	0,17 $\pm$ 0,01	4,3 $\pm$ 0,2	0,27 $\pm$ 0,04	0,043 $\pm$ 0,006
<b>BT-5</b>	34 $\pm$ 5	3,1 $\pm$ 0,1	0,46 $\pm$ 0,03	3,6 $\pm$ 0,2	0,28 $\pm$ 0,01	5,9 $\pm$ 0,3	0,34 $\pm$ 0,06	0,022 $\pm$ 0,005
<b>Média</b>	38	3,20	0,42	2,7	0,22	4,5	0,33	0,036
<b>DP</b>	22	0,43	0,15	0,7	,06	0,8	0,09	0,017
<b>CV</b>	58	13	36	27	28	18	27	46

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

ND = Valor não determinado

LD = Limite de detecção

Continuação TABELA A.2.

<b>Amostras</b>	<b>Fe</b>	<b>Hf</b>	<b>La</b>	<b>Lu</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>
<b>BC-1</b>	661 ±9	0,24 ±0,01	0,67 ±0,02	0,018 ±0,002	2584 ±229	21,6 ±0,6	138 ±3	49 ±3
<b>BC-2</b>	740 ±10	0,33 ±0,02	0,70 ±0,02	0,006 ±0,001	2339 ±183	20 ±1	119 ±4	58 ±3
<b>BC-3</b>	758 ±11	0,31 ±0,01	0,70 ±0,02	0,014 ±0,002	3361 ±311	21,1 ±0,6	106 ±4	53 ±3
<b>BC-4</b>	834 ±11	0,37 ±0,01	0,89 ±0,02	0,013 ±0,002	2142 ±160	21,8 ±0,4	101 ±3	47 ±2
<b>BC-5</b>	808 ±12	0,27 ±0,01	0,69 ±0,02	<LD	2433 ±145	20,7 ±0,5	102 ±3	ND
<b>Média</b>	760	0,31	0,73	0,013	2572	21,1	113	52
<b>DP</b>	67	0,05	0,09	0,005	469	0,6	16	5
<b>CV</b>	9	17	13	40	18	3	14	10
<b>BT-1</b>	1147 ±16	0,32 ±0,02	1,05 ±0,02	0,018 ±0,002	3502 ±166	24,5 ±0,5	102 ±3	55 ±3
<b>BT-2</b>	1977 ±24	0,60 ±0,02	1,41 ±0,03	0,033 ±0,003	1683 ±106	47 ±1	111 ±4	56 ±4
<b>BT-3</b>	2345 ±27	0,65 ±0,02	1,91 ±0,04	0,037 ±0,003	3003 ±275	39,1 ±0,8	99 ±4	55 ±3
<b>BT-4</b>	1476 ±19	0,49 ±0,02	1,06 ±0,02	0,014 ±0,002	3128 ±276	12,7 ±0,7	123 ±4	59 ±4
<b>BT-5</b>	2108 ±25	0,86 ±0,02	2,13 ±0,05	0,029 ±0,003	2265 ±224	28,4 ±0,6	106 ±6	58 ±4
<b>Média</b>	1811	0,58	1,51	0,026	2716	30,4	108	57
<b>DP</b>	488	0,20	0,49	0,010	731	13,4	9	2
<b>CV</b>	27	34	32	38	27	44	9	3

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

ND = Valor não determinado

LD = Limite de detecção

Continuação TABELA A.2.

<b>Amostras</b>	<b>Sc</b>	<b>Sm</b>	<b>Ta</b>	<b>Th</b>	<b>V</b>	<b>Yb</b>	<b>Zn</b>	<b>Zr</b>
<b>BC-1</b>	0,188 ±0,002	0,074 ±0,003	0,037 ±0,005	0,34 ±0,02	1,1 ±0,3	0,05 ±0,01	52 ±2	13 ±3
<b>BC-2</b>	0,194 ±0,002	0,062 ±0,003	0,013 ±0,004	0,33 ±0,02	0,66 ±0,02	0,07 ±0,01	63 ±3	16 ±3
<b>BC-3</b>	0,213 ±0,002	0,059 ±0,003	0,041 ±0,006	0,36 ±0,02	<LD	0,08 ±0,01	57 ±3	6 ±3
<b>BC-4</b>	0,231 ±0,002	0,101 ±0,004	0,027 ±0,009	0,45 ±0,03	1,8 ±0,2	0,08 ±0,02	53 ±3	10 ±3
<b>BC-5</b>	0,205 ±0,002	0,071 ±0,003	<LD	0,33 ±0,02	1,0 ±0,2	0,06 ±0,01	60 ±3	6 ±3
<b>Média</b>	0,206	0,073	0,030	0,36	1,16	0,07	57	10
<b>DP</b>	0,017	0,017	0,013	0,05	0,49	0,01	5	4
<b>CV</b>	8	23	43	13	42	17	8	43
<b>BT-1</b>	0,313 ±0,003	0,115 ±0,005	<LD	0,55 ±0,04	3,2 ±0,2	0,07 ±0,02	44 ±2	19 ±5
<b>BT-2</b>	0,550 ±0,005	0,157 ±0,007	0,044 ±0,008	0,81 ±0,05	1,8 ±0,2	0,20 ±0,03	58 ±3	27 ±7
<b>BT-3</b>	0,690 ±0,005	0,224 ±0,009	0,10 ±0,01	1,16 ±0,07	5,3 ±0,8	0,12 ±0,02	56 ±3	31 ±5
<b>BT-4</b>	0,403 ±0,004	0,124 ±0,006	0,042 ±0,008	0,62 ±0,04	3,2 ±0,5	0,10 ±0,02	43 ±2	ND
<b>BT-5</b>	0,617 ±0,005	0,276 ±0,011	0,05 ±0,01	1,18 ±0,07	3,0 ±0,4	0,20 ±0,03	52 ±3	20 ±6
<b>Média</b>	0,514	0,179	0,060	0,86	3,3	0,14	51	25
<b>DP</b>	0,155	0,069	0,030	0,30	1,3	0,06	7	6
<b>CV</b>	30	39	50	34	39	41	14	23

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

ND = Valor não determinado

LD = Limite de detecção

TABELA A.3: Concentrações e incertezas de elementos determinados no extrato aquoso de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

<b>Amostras</b>	<b>Ba</b>	<b>Br</b>	<b>Ca</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Fe</b>
<b>EAqBC-1</b>	2,1 $\pm$ 0,5	3,23 $\pm$ 0,03	3527 $\pm$ 374	0,068 $\pm$ 0,002	0,04 $\pm$ 0,02	0,054 $\pm$ 0,007	11,4 $\pm$ 0,7
<b>EAqBC-2</b>	<LD	1,95 $\pm$ 0,02	1471 $\pm$ 159	0,057 $\pm$ 0,002	<LD	0,018 $\pm$ 0,003	2,8 $\pm$ 0,7
<b>EAqBC-3</b>	<LD	2,80 $\pm$ 0,03	2760 $\pm$ 294	0,019 $\pm$ 0,002	<LD	0,012 $\pm$ 0,003	<LD
<b>EAqBC-4</b>	2,9 $\pm$ 0,6	2,72 $\pm$ 0,03	3548 $\pm$ 377	0,058 $\pm$ 0,002	<LD	0,018 $\pm$ 0,005	4,4 $\pm$ 0,6
<b>EAqBC-5</b>	<LD	3,56 $\pm$ 0,04	2317 $\pm$ 249	0,059 $\pm$ 0,002	0,14 $\pm$ 0,02	0,039 $\pm$ 0,006	3,7 $\pm$ 0,6
<b>Média</b>	2,5	2,85	2725	0,052	0,09	0,028	5,6
<b>DP</b>	0,5	0,61	875	0,019	0,07	0,018	4,0
<b>CV</b>	22	21	32	36	82	64	71
<b>EAqBT-1</b>	2,9 $\pm$ 0,4	1,12 $\pm$ 0,02	2993 $\pm$ 223	0,078 $\pm$ 0,002	0,16 $\pm$ 0,02	0,042 $\pm$ 0,006	3,4 $0\pm,8$
<b>EAqBT-2</b>	3,4 $\pm$ 0,5	1,11 $\pm$ 0,02	2980 $\pm$ 223	0,028 $\pm$ 0,001	0,08 $\pm$ 0,01	0,027 $\pm$ 0,005	4,2 $\pm$ 0,5
<b>EAqBT-3</b>	<LD	0,63 $\pm$ 0,01	2824 $\pm$ 211	0,029 $\pm$ 0,001	0,06 $\pm$ 0,02	0,022 $\pm$ 0,004	4,0 $\pm$ 0,6
<b>EAqBT-4</b>	5,2 $\pm$ 0,5	1,44 $\pm$ 0,02	2641 $\pm$ 195	0,338 $\pm$ 0,005	0,13 $\pm$ 0,02	0,029 $\pm$ 0,005	6,5 $\pm$ 0,6
<b>EAqBT-5</b>	2,8 $\pm$ 0,5	0,70 $\pm$ 0,02	2903 $\pm$ 215	0,026 $\pm$ 0,001	0,12 $\pm$ 0,02	0,037 $\pm$ 0,005	7,3 $\pm$ 0,6
<b>Média</b>	3,6	1,00	2868	0,100	0,11	0,031	5,1
<b>DP</b>	1,1	0,33	144	0,135	0,04	0,008	1,7
<b>CV</b>	31	33	5	135	37	26	34

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

Continuação TABELA A.3.

<b>Amostras</b>	<b>La</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>	<b>Sc</b>	<b>Zn</b>
<b>EAqBC-1</b>	0,011 ±0,001	973 ±222	5,87 ±0,08	86 ±2	40 ±3	0,0048 ±0,0002	26 ±1
<b>EAqBC-2</b>	<LD	674 ±73	1,76 ±0,05	47 ±1	30 ±2	0,0011 ±0,0002	20,4 ±0,8
<b>EAqBC-3</b>	<LD	1345 ±80	3,13 ±0,07	67 ±2	ND	0,0003 ±0,0001	20,3 ±0,8
<b>EAqBC-4</b>	0,005 ±0,001	755 ±65	4,34 ±0,09	79 ±2	40 ±3	0,0021 ±0,0002	21,8 ±0,9
<b>EAqBC-5</b>	<LD	953 ±48	3,26 ±0,11	71 ±2	34 ±3	0,0019 ±0,0002	42 ±2
<b>Média</b>	0,008	939,9	3,7	70	36,0	0,0	26,1
<b>DP</b>	0,005	259,9	1,5	15	5,0	0,0	9,3
<b>CV</b>	57	28	42	21	14	84	36
<b>EAqBT-1</b>	0,009 ±0,001	478 ±252	5,16 ±0,08	67 ±1	29 ±2	0,0023 ±0,0002	19 ±1
<b>EAqBT-2</b>	<LD	1754 ±141	4,05 ±0,08	67 ±2	32 ±2	0,0014 ±0,0001	29 ±1
<b>EAqBT-3</b>	0,008 ±0,003	1345 ±80	3,85 ±0,07	56 ±1	29 ±2	0,0013 ±0,0001	21 ±1
<b>EAqBT-4</b>	0,021 ±0,004	1169 ±40	6,24 ±0,11	76 ±2	34 ±2	0,0034 ±0,0002	22 ±1
<b>EAqBT-5</b>	0,007 ±0,001	1340 ±47	3,81 ±0,07	67 ±2	41 ±2	0,0026 ±0,0002	28 ±1
<b>Média</b>	0,011	1217	4,62	67	33	0,0022	24
<b>DP</b>	0,007	466	1,06	7	5	0,0008	5
<b>CV</b>	59	38	23	11	15	38	20

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

ND = Valor não determinado

LD = Limite de detecção



TABELA A.4: Concentrações e incertezas de elementos determinados nos extratos alcoólicos de *B. pilosa* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

<b>Amostras</b>	<b>Br</b>	<b>Ca</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Eu</b>	<b>Fe</b>
<b>EABC-1</b>	1,14 $\pm$ 0,02	222 $\pm$ 20	0,022 $\pm$ 0,001	0,11 $\pm$ 0,01	0,017 $\pm$ 0,002	<LD	2,2 $\pm$ 0,3
<b>EABC-2</b>	0,82 $\pm$ 0,01	208 $\pm$ 20	0,019 $\pm$ 0,001	0,07 $\pm$ 0,01	0,006 $\pm$ 0,002	0,0013 $\pm$ 0,0002	1,8 $\pm$ 0,3
<b>EABC-3</b>	1,41 $\pm$ 0,02	292 $\pm$ 28	0,020 $\pm$ 0,001	0,03 $\pm$ 0,01	0,010 $\pm$ 0,002	0,0010 $\pm$ 0,0003	1,6 $\pm$ 0,2
<b>EABC-4</b>	0,88 $\pm$ 0,02	257 $\pm$ 22	0,0165 $\pm$ 0,0009	0,14 $\pm$ 0,01	0,017 $\pm$ 0,002	0,0063 $\pm$ 0,0005	2,6 $\pm$ 0,4
<b>EABC-5</b>	1,58 $\pm$ 0,02	292 $\pm$ 26	0,0181 $\pm$ 0,0009	0,05 $\pm$ 0,01	0,019 $\pm$ 0,002	<LD	1,2 $\pm$ 0,4
<b>Média</b>	1,17	254	0,0191	0,08	0,014	0,0028	1,9
<b>DP</b>	0,33	39	0,0020	0,04	0,006	0,0030	0,5
<b>CV</b>	28	15	11	53	41	105	28
<b>EABT-1</b>	0,78 $\pm$ 0,01	332 $\pm$ 30	0,020 $\pm$ 0,001	0,06 $\pm$ 0,01	0,028 $\pm$ 0,004	0,0017 $\pm$ 0,0004	2,4 $\pm$ 0,4
<b>EABT-2</b>	0,77 $\pm$ 0,01	290 $\pm$ 27	0,016 $\pm$ 0,001	0,07 $\pm$ 0,01	0,030 $\pm$ 0,004	0,0021 $\pm$ 0,0004	1,5 $\pm$ 0,3
<b>EABT-3</b>	0,82 $\pm$ 0,01	278 $\pm$ 27	0,032 $\pm$ 0,001	0,09 $\pm$ 0,01	0,036 $\pm$ 0,004	0,0011 $\pm$ 0,0004	2,6 $\pm$ 0,3
<b>EABT-4</b>	0,85 $\pm$ 0,01	262 $\pm$ 26	0,038 $\pm$ 0,001	0,08 $\pm$ 0,01	0,028 $\pm$ 0,004	0,0007 $\pm$ 0,0003	2,0 $\pm$ 0,3
<b>EABT-5</b>	0,64 $\pm$ 0,01	228 $\pm$ 23	0,028 $\pm$ 0,001	0,07 $\pm$ 0,01	0,027 $\pm$ 0,004	0,0021 $\pm$ 0,0004	2,2 $\pm$ 0,3
<b>Média</b>	0,77	278	0,027	0,07	0,030	0,0015	2,1
<b>DP</b>	0,08	38	0,009	0,01	0,004	0,0007	0,4
<b>CV</b>	11	14	33	19	12	42	20

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

Continuação TABELA A.4.

<b>Amostras</b>	<b>Lu</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>	<b>Sc</b>	<b>Zn</b>
<b>EABC-1</b>	<LD	497 ±47	2,63 ±0,05	24,6 ±0,7	13,9 ±0,6	0,00048 ±0,00008	18,0 ±0,8
<b>EABC-2</b>	0,0003 ±0,0001	444 ±51	0,70 ±0,03	22,8 ±0,7	12,7 ±0,5	0,00029 ±0,00008	19,9 ±0,9
<b>EABC-3</b>	<LD	409 ±36	0,89 ±0,04	25,7 ±0,8	17,2 ±0,7	<LD	18,0 ±0,8
<b>EABC-4</b>	0,0060 ±0,0003	360 ±52	0,69 ±0,04	25,9 ±0,8	13,3 ±0,5	<LD	16,7 ±0,8
<b>EABC-5</b>	<LD	573 ±35	0,81 ±0,04	28,8 ±0,9	16,0 ±0,6	<LD	22 ±1
<b>Média</b>	0,0032	457	1,14	25,6	14,6	0,00038	18,9
<b>DP</b>	0,0040	82	0,83	2,2	1,9	0,00013	2,1
<b>CV</b>	128	18	73	9	13	35	11
<b>EABT-1</b>	0,0004 ±0,0002	441 ±43	1,21 ±0,03	28,3 ±0,7	21,3 ±0,8	<LD	28 ±2
<b>EABT-2</b>	0,0004 ±0,0002	640 ±57	0,96 ±0,04	27,3 ±0,6	21,4 ±0,8	0,00025 ±0,00009	28 ±2
<b>EABT-3</b>	<LD	507 ±37	1,07 ±0,04	26,8 ±0,6	20,3 ±0,8	0,0010 ±0,0001	31 ±2
<b>EABT-4</b>	<LD	535 ±56	1,02 ±0,03	25,5 ±0,7	19,0 ±0,7	0,00009 ±0,00006	29 ±2
<b>EABT-5</b>	0,0006 ±0,0002	335 ±28	0,81 ±0,03	23,2 ±0,7	19,8 ±0,8	0,00029 ±0,00009	25 ±1
<b>Média</b>	0,0004	492	1,01	26,2	20,3	0,00040	28
<b>DP</b>	0,0001	113	0,15	2,0	1,0	0,00038	2
<b>CV</b>	31	23	15	8	5	96	7

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

APÊNDICE B - Tabela geral dos elementos determinados, suas concentrações e incertezas, nas amostras de solo, planta e extratos referentes à *Salvia officinalis*, por meio da técnica de INAA.

TABELA B.1: Concentrações e incertezas de elementos determinados no solo de *S. officinalis* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , exceto quando indicado por %.

<b>Amostras</b>	<b>Ba</b>	<b>Br</b>	<b>Ca(%)</b>	<b>Ce</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Eu</b>
<b>SSC-P</b>	194 ±16	28,2 ±0,5	0,83 ±0,09	82 ±4	3,83 ±0,08	63 ±1	3,8 ±0,5	0,81 ±0,04
<b>SSC-1</b>	216 ±17	47,6 ±0,4	1,1 ±0,1	78 ±4	5,0 ±0,1	94 ±2	4,2 ±0,5	0,99 ±0,05
<b>SSC-2</b>	166 ±15	35,8 ±0,4	1,6 ±0,2	75 ±4	5,4 ±0,1	114 ±2	7,7 ±0,4	0,88 ±0,05
<b>SSC-3</b>	225 ±17	38,2 ±0,5	1,1 ±0,1	71 ±4	4,71 ±0,09	98 ±2	5,1 ±0,6	0,99 ±0,05
<b>SSC-4</b>	331 ±22	32,5 ±0,5	1,1 ±0,1	85 ±4	6,6 ±0,2	127 ±3	3,9 ±0,5	1,02 ±0,06
<b>SSC-5</b>	216 ±16	28,8 ±0,5	1,0 ±0,1	70 ±4	4,37 ±0,08	94 ±2	3,3 ±0,4	1,01 ±0,05
<b>Média</b>	231	36,6	1,2	76	5,2	106	4,8	0,98
<b>DP</b>	60	7,1	0,2	6	0,9	14	1,7	0,06
<b>CV</b>	26	19	20	8	17	14	35	6
<b>SST-P</b>	176 ±26	22,4 ±0,7	0,52 ±0,1	75 ±2	4,26 ±0,08	65 ±2	3,5 ±0,4	0,83 ±0,03
<b>SST-1</b>	369 ±37	17,4 ±0,4	0,5 ±0,1	58 ±2	6,5 ±0,1	78 ±3	3,6 ±0,4	0,79 ±0,03
<b>SST-2</b>	292 ±33	18,6 ±0,4	0,8 ±0,2	94 ±3	5,38 ±0,09	89 ±3	3,3 ±0,4	1,02 ±0,03
<b>SST-3</b>	242 ±30	15,8 ±0,5	0,8 ±0,1	69 ±2	5,12 ±0,09	98 ±3	2,7 ±0,3	0,88 ±0,03
<b>SST-4</b>	370 ±40	21,2 ±0,6	0,8 ±0,2	89 ±3	6,4 ±0,1	107 ±4	4,3 ±0,5	1,04 ±0,03
<b>SST-5</b>	230 ±30	18,5 ±0,5	0,5 ±0,1	62 ±2	5,11 ±0,09	99 ±3	3,5 ±0,4	0,93 ±0,03
<b>Média</b>	301	18,3	0,7	75	5,69	94	3,5	0,93
<b>DP</b>	67	2,0	0,2	16	0,68	11	0,6	0,10
<b>CV</b>	22	11	26	22	12	12	16	11

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

Continuação TABELA B.1.

<b>Amostras</b>	<b>Fe(%)</b>	<b>Hf</b>	<b>La</b>	<b>Lu</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>
<b>SSC-P</b>	2,77 ±0,02	8,4 ±0,2	38,7 ±0,7	0,37 ±0,03	14017 ±1254	184 ±5	854 ±23	22 ±2
<b>SSC-1</b>	3,17 ±0,03	8,5 ±0,2	42,1 ±0,8	0,37 ±0,03	14674 ±1295	237 ±6	979 ±23	24 ±2
<b>SSC-2</b>	3,36 ±0,03	9,1 ±0,2	44,9 ±0,9	0,56 ±0,04	17830 ±1394	190 ±3	886 ±21	26 ±2
<b>SSC-3</b>	3,12 ±0,03	9,3 ±0,2	40,2 ±0,8	0,65 ±0,05	18931 ±1524	236 ±4	762 ±19	21 ±2
<b>SSC-4</b>	2,62 ±0,02	9,4 ±0,2	40,3 ±0,8	0,37 ±0,03	20295 ±1584	270 ±5	604 ±17	26 ±2
<b>SSC-5</b>	2,87 ±0,02	9,0 ±0,2	41,4 ±0,8	0,40 ±0,03	11858 ±1472	177 ±4	712 ±20	19 ±1
<b>Média</b>	3,03	9,0	41,8	0,47	16717	222	788	23
<b>DP</b>	0,29	0,3	1,9	0,13	3418	38	147	3
<b>CV</b>	10	4	5	27	20	17	19	14
<b>SST-P</b>	3,10 ±0,03	10,5 ±0,1	32,7 ±0,6	0,51 ±0,02	13878 ±1161	196 ±5	431 ±35	33 ±5
<b>SST-1</b>	2,48 ±0,03	9,3 ±0,1	29,3 ±0,5	0,43 ±0,02	15330 ±1171	171 ±5	512 ±15	10 ±3
<b>SST-2</b>	2,72 ±0,03	9,2 ±0,1	44,9 ±0,8	0,45 ±0,02	16832 ±1276	173 ±3	573 ±17	32 ±5
<b>SST-3</b>	2,73 ±0,03	8,2 ±0,1	33,0 ±0,6	0,40 ±0,02	16494 ±1381	158 ±3	864 ±28	32 ±5
<b>SST-4</b>	3,15 ±0,03	11,4 ±0,1	43,6 ±0,8	0,47 ±0,02	13097 ±1180	167 ±3	558 ±25	48 ±6
<b>SST-5</b>	2,89 ±0,03	9,6 ±0,1	33,7 ±0,6	0,41 ±0,02	9045 ±2422	166 ±4	574 ±25	56 ±7
<b>Média</b>	2,79	9,6	36,9	0,43	14159	167	616	35
<b>DP</b>	0,25	1,2	6,9	0,03	3211	6	141	18
<b>CV</b>	9	12	19	6	23	4	23	50

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

Continuação TABELA B.1.

<b>Amostras</b>	<b>Sc</b>	<b>Sm</b>	<b>Ta</b>	<b>Th</b>	<b>V</b>	<b>Yb</b>	<b>Zn</b>	<b>Zr</b>
<b>SSC-P</b>	10,91 ±0,09	5,4 ±0,2	1,06 ±0,04	15 ±1	101 ±10	2,9 ±0,3	217 ±9	316 ±24
<b>SSC-1</b>	12,5 ±0,1	6,0 ±0,2	1,56 ±0,09	16 ±1	128 ±11	3,2 ±0,3	298 ±12	281 ±24
<b>SSC-2</b>	11,7 ±0,1	7,0 ±0,3	1,30 ±0,05	20 ±2	120 ±11	4,4 ±0,5	240 ±10	345 ±26
<b>SSC-3</b>	12,4 ±0,1	6,3 ±0,2	1,43 ±0,05	15 ±1	131 ±11	5,7 ±0,7	301 ±12	136 ±22
<b>SSC-4</b>	11,19 ±0,09	5,9 ±0,2	1,54 ±0,05	13 ±1	97 ±7	2,9 ±0,3	255 ±10	362 ±25
<b>SSC-5</b>	11,34 ±0,09	6,3 ±0,2	1,09 ±0,04	16 ±1	79 ±5	2,9 ±0,3	298 ±12	281 ±24
<b>Média</b>	11,82	6,3	1,38	16	111	3,8	278	281
<b>DP</b>	0,59	0,4	0,20	2	22	1,2	29	89
<b>CV</b>	5	7	14	15	20	32	10	32
<b>SST-P</b>	12,247 ±0,08	4,5 ±0,2	1,58 ±0,07	19 ±1	114 ±11	3,4 ±0,3	159 ±7	243 ±40
<b>SST-1</b>	9,95 ±0,06	4,4 ±0,2	0,52 ±0,05	14,6 ±0,8	84 ±8	2,9 ±0,2	171 ±7	239 ±35
<b>SST-2</b>	11,17 ±0,07	7,3 ±0,3	1,36 ±0,07	20 ±1	113 ±11	3,2 ±0,2	148 ±6	290 ±40
<b>SST-3</b>	10,78 ±0,07	4,2 ±0,2	1,04 ±0,06	14,7 ±0,8	94 ±8	2,3 ±0,2	166 ±7	237 ±37
<b>SST-4</b>	13,29 ±0,08	6,0 ±0,2	1,68 ±0,07	21 ±1	90 ±7	2,8 ±0,2	175 ±8	332 ±39
<b>SST-5</b>	11,15 ±0,07	4,7 ±0,2	1,08 ±0,06	17 ±1	81 ±6	3,0 ±0,2	183 ±8	147 ±31
<b>Média</b>	11,27	5,3	1,14	17,4	92	2,8	169	249
<b>DP</b>	1,23	1,3	0,43	2,9	13	0,3	13	69
<b>CV</b>	11	25	38	17	14	12	8	28

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

TABELA B.2: Concentrações e incertezas dos elementos determinados nas plantas da espécie *S. officinalis* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

<b>Amostras</b>	<b>Ba</b>	<b>Br</b>	<b>Ca</b>	<b>Ce</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Eu</b>
<b>SC-1</b>	31 $\pm$ 3	3,76 $\pm$ 0,08	7758 $\pm$ 635	3,3 $\pm$ 0,2	0,51 $\pm$ 0,02	ND	0,33 $\pm$ 0,04	0,082 $\pm$ 0,008
<b>SC-2</b>	41 $\pm$ 4	2,47 $\pm$ 0,07	9017 $\pm$ 733	1,6 $\pm$ 0,2	0,28 $\pm$ 0,01	2,6 $\pm$ 0,2	ND	0,065 $\pm$ 0,006
<b>SC-3</b>	39 $\pm$ 4	3,12 $\pm$ 0,08	7915 $\pm$ 648	1,1 $\pm$ 0,1	0,25 $\pm$ 0,01	1,6 $\pm$ 0,1	0,38 $\pm$ 0,04	0,032 $\pm$ 0,005
<b>SC-4</b>	33 $\pm$ 4	2,73 $\pm$ 0,08	6526 $\pm$ 542	1,4 $\pm$ 0,1	0,22 $\pm$ 0,01	1,9 $\pm$ 0,1	0,34 $\pm$ 0,04	0,026 $\pm$ 0,005
<b>SC-5</b>	22 $\pm$ 3	2,6 $\pm$ 0,1	6802 $\pm$ 561	1,3 $\pm$ 0,1	0,27 $\pm$ 0,02	1,6 $\pm$ 0,1	0,33 $\pm$ 0,04	0,049 $\pm$ 0,006
<b>Média</b>	33	2,94	7604	1,8	0,31	1,9	0,34	0,051
<b>DP</b>	7	0,52	990	0,9	0,12	0,5	0,03	0,023
<b>CV</b>	22	18	13	51	38	24	7	45
<b>ST-1</b>	38 $\pm$ 4	3,8 $\pm$ 0,1	6689 $\pm$ 739	1,0 $\pm$ 0,1	0,18 $\pm$ 0,01	2,3 $\pm$ 0,1	0,28 $\pm$ 0,03	0,044 $\pm$ 0,007
<b>ST-2</b>	33 $\pm$ 4	3,4 $\pm$ 0,1	7095 $\pm$ 781	0,9 $\pm$ 0,1	0,21 $\pm$ 0,01	2,6 $\pm$ 0,1	0,31 $\pm$ 0,04	0,026 $\pm$ 0,007
<b>ST-3</b>	16 $\pm$ 4	3,5 $\pm$ 0,2	8208 $\pm$ 893	1,0 $\pm$ 0,1	0,20 $\pm$ 0,01	2,8 $\pm$ 0,1	0,28 $\pm$ 0,03	<LD
<b>ST-4</b>	28 $\pm$ 3	3,4 $\pm$ 0,1	8635 $\pm$ 937	1,0 $\pm$ 0,1	0,21 $\pm$ 0,01	2,7 $\pm$ 0,1	0,41 $\pm$ 0,03	<LD
<b>ST-5</b>	27 $\pm$ 4	3,0 $\pm$ 0,1	5878 $\pm$ 652	1,4 $\pm$ 0,1	0,18 $\pm$ 0,01	2,0 $\pm$ 0,1	ND	0,044 $\pm$ 0,008
<b>Média</b>	29	3,4	7301	1,1	0,19	2,5	0,32	0,038
<b>DP</b>	8	0,3	1123	0,2	0,02	0,3	0,06	0,010
<b>CV</b>	29	8	15	21	9	12	19	27

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

ND = Valor não determinado

LD = Limite de detecção

Continuação TABELA B.2.

<b>Amostras</b>	<b>Fe</b>	<b>Hf</b>	<b>La</b>	<b>Lu</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>
<b>SC-1</b>	1379 ±15	0,69 ±0,03	1,64 ±0,05	0,048 ±0,005	5926 ±332	45,6 ±0,7	127 4	27 ±1
<b>SC-2</b>	725 ±9	0,25 ±0,03	0,99 ±0,03	0,030 ±0,005	7124 ±567	24,3 ±0,6	122 4	28 ±1
<b>SC-3</b>	582 ±8	0,11 ±0,02	0,82 ±0,03	<LD	4547 ±258	27,0 ±0,5	116 4	31 ±2
<b>SC-4</b>	561 ±8	0,25 ±0,02	0,88 ±0,03	<LD	7483 ±329	37,2 ±0,7	104 4	37 ±2
<b>SC-5</b>	466 ±7	0,31 ±0,02	0,88 ±0,04	0,031 ±0,004	5089 ±293	26 ±1	86 5	33 ±2
<b>Média</b>	743	0,32	1,04	0,036	6034	32,1	111	31
<b>DP</b>	368	0,22	0,34	0,010	1265	9,1	16	4
<b>CV</b>	50	68	33	28	21	28	15	13
<b>ST-1</b>	488 ±6	0,09 ±0,01	0,65 ±0,03	0,019 ±0,006	3756 ±253	20,9 ±0,5	80 7	41 ±2
<b>ST-2</b>	500 ±6	0,16 ±0,01	0,56 ±0,02	<LD	4678 ±442	27,3 ±0,7	97 8	39 ±2
<b>ST-3</b>	531 ±6	0,27 ±0,02	0,78 ±0,03	<LD	3482 ±235	22,2 ±0,5	102 9	36 ±2
<b>ST-4</b>	441 ±6	0,09 ±0,01	0,58 ±0,03	0,024 ±0,006	3805 ±254	22,4 ±0,5	ND	33 ±2
<b>ST-5</b>	559 ±7	0,29 ±0,02	0,64 ±0,03	0,024 ±0,007	2930 ±248	25,9 ±0,9	95 9	35 ±2
<b>Média</b>	504	0,18	0,64	0,022	3730	23,7	93	37
<b>DP</b>	45	0,10	0,09	0,003	634	2,7	10	3
<b>CV</b>	9	53	13	13	17	11	10	8

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

ND = Valor não determinado

LD = Limite de detecção

Continuação TABELA B.2.

<b>Amostras</b>	<b>Sc</b>	<b>Sm</b>	<b>Th</b>	<b>V</b>	<b>Yb</b>	<b>Zn</b>
<b>SC-1</b>	0,690 ±0,005	0,23 ±0,01	0,64 ±0,06	4,1 ±0,8	0,13 ±0,02	240 ±11
<b>SC-2</b>	0,331 ±0,003	0,101 ±0,006	0,29 ±0,03	2,8 ±0,4	0,07 ±0,01	215 ±10
<b>SC-3</b>	0,254 ±0,003	0,087 ±0,006	0,23 ±0,02	<LD	0,025 ±0,009	225 ±10
<b>SC-4</b>	0,267 ±0,003	0,117 ±0,008	0,26 ±0,03	1,7 ±0,3	0,028 ±0,008	230 ±10
<b>SC-5</b>	0,194 ±0,003	0,146 ±0,009	0,25 ±0,03	1,0 ±0,3	0,10 ±0,01	220 ±10
<b>Média</b>	0,347	0,136	0,33	2,4	0,071	226
<b>DP</b>	0,198	0,057	0,17	1,4	0,047	10
<b>CV</b>	57	42	52	57	66	4
<b>ST-1</b>	0,252 ±0,003	0,052 ±0,006	0,18 ±0,02	0,8 ±0,5	0,08 ±0,03	288 ±9
<b>ST-2</b>	0,255 ±0,003	0,057 ±0,006	0,14 ±0,01	<LD	0,037 ±0,009	291 ±10
<b>ST-3</b>	0,300 ±0,003	0,059 ±0,006	0,20 ±0,02	<LD	0,06 ±0,01	276 ±9
<b>ST-4</b>	0,216 ±0,003	0,047 ±0,006	0,17 ±0,02	<LD	0,026 ±0,007	243 ±8
<b>ST-5</b>	0,298 ±0,003	0,080 ±0,007	0,23 ±0,02	1,8 ±0,4	0,025 ±0,007	223 ±7
<b>Média</b>	0,264	0,059	0,18	1,3	0,045	264
<b>DP</b>	0,035	0,013	0,03	0,6	0,023	30
<b>CV</b>	13	21	19	49	52	11

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção



TABELA B.3: Concentrações e incertezas dos elementos determinados nos extratos aquoso de *S. officinalis* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

<b>Amostras</b>	<b>Ba</b>	<b>Br</b>	<b>Ca</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Fe</b>
<b>EAqSC-1</b>	<LD	0,81 $\pm$ 0,01	2618 $\pm$ 340	0,026 $\pm$ 0,001	0,09 $\pm$ 0,02	0,024 $\pm$ 0,003	<LD
<b>EAqSC-2</b>	<LD	0,95 $\pm$ 0,01	3444 $\pm$ 460	0,047 $\pm$ 0,002	<LD	0,032 $\pm$ 0,004	<LD
<b>EAqSC-3</b>	2,7 $\pm$ 0,5	1,41 $\pm$ 0,02	3255 $\pm$ 435	0,032 $\pm$ 0,001	0,09 $\pm$ 0,02	0,035 $\pm$ 0,004	<LD
<b>EAqSC-4</b>	2,5 $\pm$ 0,4	1,29 $\pm$ 0,02	3203 $\pm$ 435	0,043 $\pm$ 0,002	0,10 $\pm$ 0,02	0,049 $\pm$ 0,005	<LD
<b>EAqSC-5</b>	3,1 $\pm$ 0,5	1,47 $\pm$ 0,02	3981 $\pm$ 542	0,043 $\pm$ 0,002	0,12 $\pm$ 0,02	0,049 $\pm$ 0,004	<LD
<b>Média</b>	2,8	1,19	3300	0,038	0,10	0,038	
<b>DP</b>	0,3	0,29	490	0,009	0,01	0,011	
<b>CV</b>	11	25	15	23	13	30	
<b>EAqST-1</b>	<LD	2,36 $\pm$ 0,02	1020 $\pm$ 161	0,040 $\pm$ 0,003	0,15 $\pm$ 0,03	0,084 $\pm$ 0,01	<LD
<b>EAqST-2</b>	<LD	2,45 $\pm$ 0,02	705 $\pm$ 119	0,045 $\pm$ 0,002	<LD	0,093 $\pm$ 0,01	<LD
<b>EAqST-3</b>	<LD	2,00 $\pm$ 0,02	978 157	0,034 $\pm$ 0,002	0,17 $\pm$ 0,04	0,069 $\pm$ 0,01	<LD
<b>EAqST-4</b>	<LD	2,14 $\pm$ 0,02	1031 $\pm$ 165	0,043 $\pm$ 0,003	0,15 $\pm$ 0,03	0,065 $\pm$ 0,01	<LD
<b>EAqST-5</b>	<LD	3,01 $\pm$ 0,03	976 $\pm$ 160	0,041 $\pm$ 0,002	0,14 $\pm$ 0,03	0,108 $\pm$ 0,02	<LD
<b>Média</b>		2,39	942	0,041	0,15	0,084	
<b>DP</b>		0,39	135	0,004	0,01	0,018	
<b>CV</b>		16	14	10	8	21	

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

Continuação TABELA B.3.

<b>Amostras</b>	<b>Hf</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>	<b>Sc</b>	<b>Zn</b>
<b>EAqSC-1</b>	<LD	1595 ±144	3,02 ±0,06	58 ±1	12,8 ±0,6	0,0014 ±0,0001	27 ±1
<b>EAqSC-2</b>	<LD	1923 ±107	5,5 ±0,1	64 ±2	17,6 ±0,8	0,0024 ±0,0002	29 ±1
<b>EAqSC-3</b>	<LD	1902 ±91	4,93 ±0,07	81 ±2	18,9 ±0,9	0,0020 ±0,0002	27 ±1
<b>EAqSC-4</b>	<LD	2102 ±117	7,1 ±0,1	80 ±2	23,0 ±1	0,0039 ±0,0002	28 ±1
<b>EAqSC-5</b>	0,027 ±0,003	2530 ±114	6,99 ±0,09	62 ±2	18,9 ±0,9	0,0035 ±0,0002	24 ±1
<b>Média</b>	0,027	2010	5,51	69	18,2	0,0026	27
<b>DP</b>		343	1,67	10	3,7	0,0010	2
<b>CV</b>		17	30	15	20	40	6
<b>EAqST-1</b>	<LD	1380 ±133	4,47 ±0,08	91 ±2	19,15 ±0,9	0,0024 ±0,0002	25 ±1
<b>EAqST-2</b>	<LD	658 ±118	3,25 ±0,07	75 ±2	23,19 ±1	0,0025 ±0,0002	26 ±1
<b>EAqST-3</b>	<LD	1512 ±83	3,15 ±0,05	98 ±2	18,6 ±0,8	0,0026 ±0,0002	25 ±1
<b>EAqST-4</b>	<LD	1110 ±63	2,71 ±0,05	75 ±2	15,14 ±0,7	0,0025 ±0,0002	33 ±1
<b>EAqST-5</b>	<LD	2186 ±98	4,34 ±0,07	105 ±2	29,64 ±1	0,0028 ±0,0002	30 ±1
<b>Média</b>		1369	3,58	89	21,15	0,0026	28
<b>DP</b>		561	0,78	13	5,54	0,0002	3
<b>CV</b>		41	22	15	26	6	12

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

TABELA B.4: Concentrações e incertezas dos elementos determinados nos extratos alcoólicos de *S. officinalis* dos grupos controle e tratamento. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

<b>Amostras</b>	<b>Br</b>	<b>Ca</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cs</b>	<b>Eu</b>
<b>EASC-1</b>	0,317 $\pm$ 0,007	232 $\pm$ 54	0,032 $\pm$ 0,003	<LD	0,012 $\pm$ 0,004	0,003 $\pm$ 0,001
<b>EASC-2</b>	0,304 $\pm$ 0,007	513 $\pm$ 102	0,036 $\pm$ 0,003	0,12 $\pm$ 0,02	0,024 $\pm$ 0,005	0,004 $\pm$ 0,001
<b>EASC-3</b>	0,372 $\pm$ 0,008	135 $\pm$ 42	0,039 $\pm$ 0,003	<LD	0,037 $\pm$ 0,006	0,007 $\pm$ 0,001
<b>EASC-4</b>	0,271 $\pm$ 0,009	211 $\pm$ 49	0,036 $\pm$ 0,003	<LD	0,020 $\pm$ 0,005	<LD
<b>EASC-5</b>	0,42 $\pm$ 0,01	205 $\pm$ 51	0,035 $\pm$ 0,003	0,10 $\pm$ 0,03		0,007 $\pm$ 0,001
<b>Média</b>	0,34	259	0,036	0,11	0,02	0,005
<b>DP</b>	0,06	147	0,003	0,02	0,01	0,002
<b>CV</b>	17	56	7	17	46	40
<b>EAST-1</b>	1,59 $\pm$ 0,02	192 $\pm$ 48	0,033 $\pm$ 0,002	<LD	0,037 $\pm$ 0,004	0,0044 $\pm$ 0,0006
<b>EAST-2</b>	1,47 $\pm$ 0,02	163 $\pm$ 48	0,028 $\pm$ 0,002	<LD	0,048 $\pm$ 0,004	0,0022 $\pm$ 0,0006
<b>EAST-3</b>	1,49 $\pm$ 0,02	135 $\pm$ 42	0,028 $\pm$ 0,002	<LD	0,043 $\pm$ 0,004	<LD
<b>EAST-4</b>	1,87 $\pm$ 0,02	127 $\pm$ 43	0,032 $\pm$ 0,002	<LD	0,050 $\pm$ 0,004	0,0063 $\pm$ 0,0007
<b>EAST-5</b>	1,43 $\pm$ 0,02	142 $\pm$ 45	0,024 $\pm$ 0,002	0,07 $\pm$ 0,02	0,039 $\pm$ 0,004	0,0052 $\pm$ 0,0007
<b>Média</b>	1,57	152	0,029	0,07	0,043	0,0045
<b>DP</b>	0,18	26	0,004		0,006	0,0017
<b>CV</b>	11	17	12		13	38

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

LD = Limite de detecção

Continuação TABELA B.4.

<b>Amostras</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Rb</b>	<b>Zn</b>
<b>EASC-1</b>	694 ±34	0,67 ±0,03	28 ±1	6,2 ±0,5	21 ±1
<b>EASC-2</b>	594 ±31	0,86 ±0,02	26 ±1	7,2 ±0,5	22 ±1
<b>EASC-3</b>	847 ±51	0,74 ±0,02	27 ±1	7,6 ±0,6	22 ±1
<b>EASC-4</b>	396 ±34	0,68 ±0,04	20 ±1	7,0 ±0,5	19 ±1
<b>EASC-5</b>	483 ±37	0,86 ±0,03	25 ±2	10,8 ±0,8	26 ±1
<b>Média</b>	603	0,76	25	7,8	22,2
<b>DP</b>	177	0,09	3	1,8	2,5
<b>CV</b>	29	12	12	23,0	11,4
<b>EAST-1</b>	563 ±35	0,78 ±0,02	31,1 ±0,7	8,4 ±0,4	19,8 ±0,8
<b>EAST-2</b>	309 ±23	0,38 ±0,02	33,1 ±0,8	10,7 ±0,5	17,0 ±0,7
<b>EAST-3</b>	544 ±43	0,53 ±0,02	46 ±1	11,1 ±0,5	16,5 ±0,6
<b>EAST-4</b>	751 ±63	0,58 ±0,02	37,8 ±0,9	9,3 ±0,4	17,1 ±0,7
<b>EAST-5</b>	238 ±32	0,34 ±0,02	39 ±1	9,2 ±0,4	15,8 ±0,6
<b>Média</b>	481	0,52	37,3	9,7	17,2
<b>DP</b>	208	0,17	5,8	1,1	1,5
<b>CV</b>	43	34	16	11	9

DP = Desvio padrão

CV = Coeficiente de variação

APÊNDICE C - Dispersão dos valores obtidos para as características físicas das plantas da espécie *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis*.

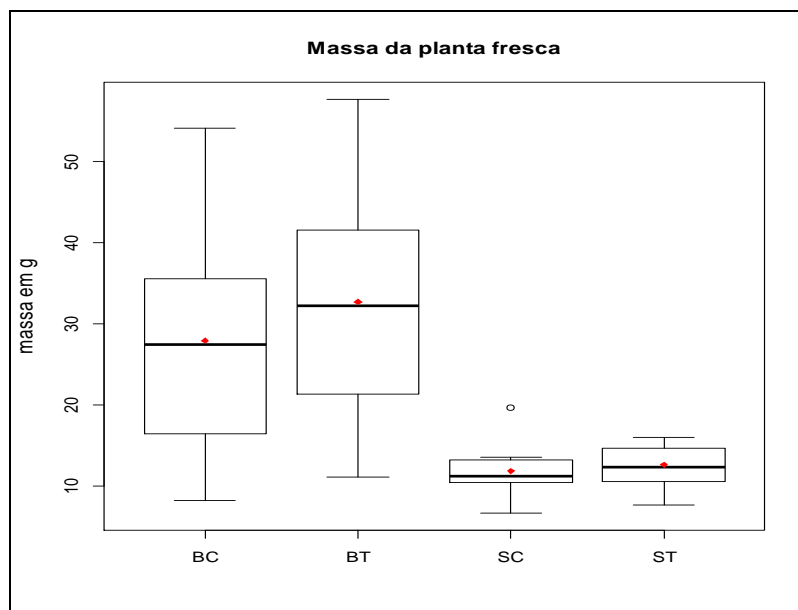


FIGURA C.1: Dispersão dos valores de massa da planta fresca (g) para amostras de *B. pilosa* e *S. officinalis*

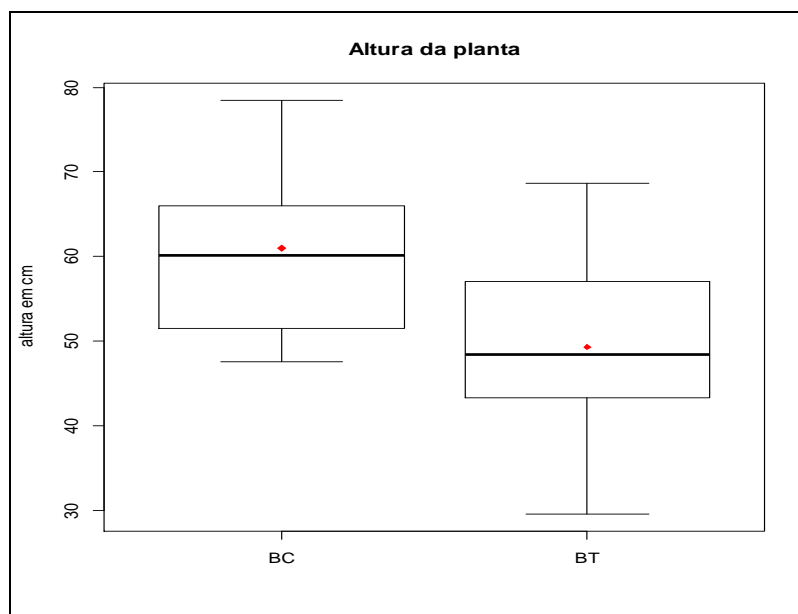


FIGURA C.2: Dispersão dos valores de altura da planta (cm) para amostras de *B. pilosa*

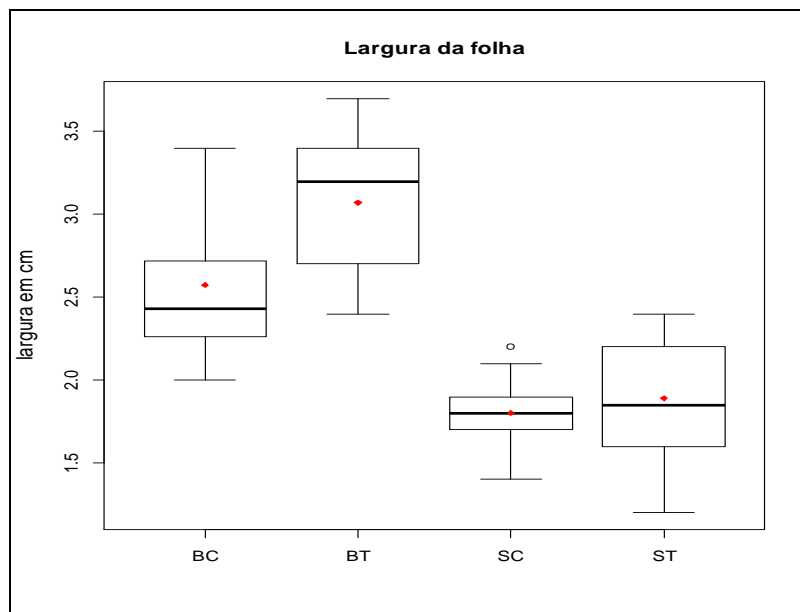


FIGURA C.3: Dispersão dos valores de largura das folhas (cm) para amostras de *B. pilosa* e *S. officinalis*

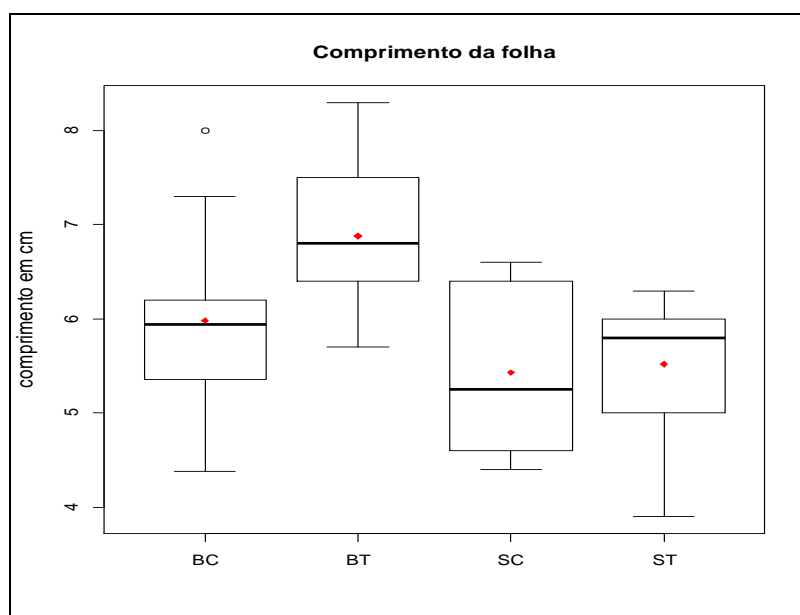


FIGURA C.4: Dispersão dos valores de comprimento das folhas (g) para amostras de *B. pilosa* e *S. officinalis*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFRIDI, H. I.; KAZI, T. G.; BRABAZON, D.; NAHER, S.; TALPUR, F. N. Comparative metal distribution in scalp hair of Pakistani and Irish referents and diabetes mellitus patients. *Clinica Chimica Acta*, v. 415 p. 207-214, 2013.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of Diabetes mellitus. *Diabetes Care*, n. 34, v. 1, p. S62-S69, 2011.
- AFRIDI, H.I.; KAZI, T.G.; KAZI, N.; JAMALI, M.K.; ARAIN, M.B.; JALBANI, N.; SARFARAZ, R.A.; SHAH, A.; KANDHRO, G.A.; SHAH, A.Q.; BAIG, J.A. Potassium, calcium, magnesium, and sodium levels in biological samples of hypertensive and nonhypertensive diabetes mellitus patients. *Biological Trace Element Research*, v. 124, p. 206-224, 2008.
- ALARCON-AGUIAR, F.J.; ROMAN-RAMOS, R; FLORES-SAENZ, J.L.; AGUIRRE-GARCIA, F. Investigation on the hypoglycaemic effects of extracts of four mexican medicinal plants in normal and alloxan-diabetic mice. *Phytotherapy Research*, v. 16, n. 4, p. 383-386, 2002.
- ALICE, C.B; SIQUEIRA, N.C.S.; MENTZ, L.A; SILVA, G.A.A.B.; JOSÉ, K.F.D. *Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacológico*. 1995. Canoas: Ulbra.
- ALMEIDA, A. E. C. G. *Diabetes mellitus como causa da amputação não traumática no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia*. 2008. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.
- AMR, S.; ĐORĐEVIĆ, S. The investigation of the quality of sage (*Salvia officinalis* L.) originating from Jordan. *UDC 582.824. Facta Universitatis - series: Working and Living Enviromental Protection*, v. 1, n. 5, p. 103-108, 2000.
- ANDERSON, R.A. Chromium and diabetes. *Nutrition*, v. 15, n 9, p.720-722, 1999.
- ANDRADE-CETTO, A.; WIEDENFELD, H. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 78, p. 145-149, 2001.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. 4ª ed. parte 2. 1996.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. 5ª ed. volume 1. 2010a.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Homeopática Brasileira*. 3ª ed., 2011.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RDC nº 10, de 9 de março de 2010*. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. 2010b.

ASSIS, M.L.V. *Determinação do potencial antioxidante e quantificação de compostos fenólicos por CLAE em acessos de Capsicum baccatum var. pendulum*. 2014.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro.

BANNWART, T.A.; CORTEZ, L.E.R.; MELLA, E.A.C., Avaliação das atividades biológicas e físico-químicas do óleo essencial obtido da *Salvia officinalis* frete à adubação orgânica. In: Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica do Cesumar, 4, 20-24 outubro, 2008, Paraná. **Artigo**.

BARBOSA-FILHO, J.M.; VASCONCELOS, T.H.C.; ALENCAR, A.A.; BATISTA, L.M.; OLIVEIRA, R.A. G.; GUEDES, D.N.; FALCÃO, H.S.; MOURA, M.D.; DINIZ, M.F.F.M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 15, p. 392-413, 2005.

BARICEVIC, D; SOSA, S; DELLA LOGGIA, R; TUBARO, A; SIMONOVSKA, B; KRASNA, A; ZUPANCIC, A. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 75, n. 2-3, p. 125-132, 2001.

BARTOLOME, A.P.; VILLASEÑOR, I.M.; YANG, W.C. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical properties, traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2013, p.1-51, 2013.

BHADORIYA, U.; TIWARI, S.; SHARMA, P.; BANKEY, S.; MOURYA, M. Diuretic activity of extract of *Salvia officinalis* L. *Asian Journal of Pharmacy & Life Science*, v. 1, n. 1, p. 24-28, 2011.

BHANOT, S.; THOMPSON, K.H.; MCNEILL, J.H. Essential trace elements of potential importance in nutritional management of diabetes mellitus. *Nutrition Research*, v. 14, n. 4, p. 593-604, 1994.

BORGES, K. N.; BAUTISTA, H. P.; GUILHERA, S. Diabetes – utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. *Revista Eletrônica da Faculdade de Farmácia*, v. 5, p. 12-20, 2008.

BOUAZIZ, M.; YANGUI, T.; SAYADI, S.; DHOUIB, A. Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L. cultivated in Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, v. 47, p. 2755-2760, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Cadernos de Atenção Básica. *Estratégia para o cuidado da pessoa com doença crônica: Diabetes mellitus*. Brasília, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Relação de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS. 2009. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms\\_relacao\\_plantas\\_mediciniais\\_sus\\_0603.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_mediciniais_sus_0603.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2015.

CASTRO, V. R. O. Chromium in a series of Portuguese plants used in the herbal treatment of diabetes. *Biological Trace Element Research*, v. 62, p. 101-106, 1998.



CHANG, C.L.T.; CHANG, S.L.; LEE, Y.M.; CHIANG, Y.M.; CHUANG, D.Y.; KUO, H.K.; YANG, W.C. Cytopiloyne, a polyacetylenic glucoside, prevents type 1 diabetes in nonobese diabetic mice, *Journal of Immunology*, v. 178, n. 11, p. 6984-6993, 2007.

CHANG, S.L.; CHANG, C.L.; CHIANG, Y.M.; HSIEH, R.H.; TZENG, C.R.; WU, T.K.; SYTWU, H.K.; SHYUR, L.F.; YANG, W.C. Polyacetylenic compounds and butanol fraction from *Bidens pilosa* can modulate the differentiation of helper T cells and prevent autoimmune diabetes in non-obese diabetic mice. *Planta Medica*, v. 70, n. 11, p. 1045-51, 2004.

CHIEN, S.C.; YOUNG, P.H.; HSU, Y.J.; CHEN, C.H.; TIEN, Y.J.; SHIU, S.Y.; LI T.H.; YANG, C.W.; MARIMUTHU, P.; TSAI, L.F.L.; YANG, W.C. Anti-diabetic properties of three common *Bidens pilosa* variants in Taiwan. *Phytochemistry*, v. 70, p. 1246-1254, 2009.

CHOI, J.S.; ISLAM, M.N.; ALI, M.Y.; KIM, E.J.; KIM, Y.M.; JUNG, H.A. Effects of C-glycosylation on anti-diabetic, anti-Alzheimer's disease and anti-inflammatory potential of apigenin. *Food and Chemical Toxicology*, v. 64, p. 27-33, 2014.

CHOO, C.Y.; SULONG, N.Y.; MAN, F.; WONG, T.W. Vitexin and isovitexin from the Leaves of *Ficus deltoidea* with in-vivo  $\alpha$ -glucosidase inhibition. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 142, p. 776-781, 2012.

COHEN, J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 1988. Hillsdale, NJ, Erlbaum.

CHRISTENSEN, K.B.; JØRGENSEN, M.; KOTOWSKA, D.; PETERSEN, R.K.; KRISTIANSEN, K.; CHRISTENSEN, L.P. Activation of the nuclear receptor PPAR $\gamma$  by metabolites isolated from sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 132, n. 1, p. 127-133, 2010.

COSTA, J.A.; BALGA, R.S.M.; ALFENAS, R.C.G.; COTTA, R.M.M. Promoção da saúde e diabetes: discutindo a adesão e a motivação de indivíduos diabéticos participantes de programas de saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 16, n. 3, p. 2001-2009, 2011.

DANCEY, C.; REIDY, J. *Estatística sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows*. 2006. Porto Alegre, Artmed.

DENT, M.; UZELAC, V. D.; PENIĆ, M.; BRNČIĆ, M.; BOSILJKOV, T.; LEVAJ, B. The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. *Food Technology and Biotechnology*, v. 51, n. 1, p. 84-91, 2013.

EIDI, A.; EIDI, M. Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, Diabetes & Metabolic Syndrome: *Clinical Research & Reviews*, v. 3, p. 40-44, 2009.

EIDI, M.; EIDI, A.; BAHAR, M. Effects of *Salvia officinalis* L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. *Nutrition*, v. 22, p. 321-326, 2006.

- EIDI, M.; EIDI, A.; ZAMANIZADEH, H. Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, p. 310-313, 2005.
- EL-SAYED, M.K. Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 137, p. 643-651, 2011.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias. Centro Nacional de Pesquisa do Solo. *Manual de métodos de análise de solo*. 2ª ed. Rio de Janeiro, 1997.
- ERDEMOGLU, N.; TURAN, N. N.; AKKOL, E. K.; SENNER, B.; ABACIOGLU, N. Estimation of anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities on *Arctium minus* (Hill) Bernh. ssp. Minus, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 121, p. 318-323, 2009.
- FIGUEIREDO FILHO, D.B.; SILVA JUNIOR, J.A.. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). *Revista Política Hoje*, v. 18, n. 1, 2009.
- FLORES, C.R.; PUGA, M.P.; WROBEL, K.; SEVILLA, M.E.G.; WROBEL, K. Trace elements status in diabetes mellitus type 2: Possible role of the interaction between molybdenum and copper in the progress of typical complications. *Diabetes Research And Clinical Practice*, v. 91, p. 333-341, 2011.
- FREITAS, L.R.S.; GARCIA L. P. Evolução da prevalência do diabetes e deste associado à hipertensão arterial no Brasil: análise da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios, 1998, 2003 e 2008. *Epidemiologia e Serviço de Saúde*, Brasília, v. 21, n. 1, p. 7-19, 2012.
- GARBUIO, F.J. *Atributos químicos e biológicos do solo, nutrição e produção de grãos de soja influenciados pela calagem e pela cobertura de aveia preta em sistema de plantio direto*. 2009. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- GARCIA, C.S.C.; ELY, M.R.; WASUM, R.A.; ZOPPA, B.C.; WOLLHEIM, C.; NEVES, G.A.; ANGELI, V.W.; SOUZA, K.C.B. Assessment of *Salvia officinalis* (L.) hydroalcoholic extract for possible use in cosmetic formulation as inhibitor of pathogens in the skin. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 33, n. 4, p. 509-514, 2012.
- GBOLADE, A.A. Inventory of antidiabetic plants in selected districts of Lagos State, Nigeria, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 121, n. 135-139, 2009.
- GHORBANI, A., RAKHSHANDEH, H. The most effective herbs for diabetes. *Mashhad University of Medical Sciences Publisher*, p. 21-127, 2012.
- GIORDANO, P.M.; NOGGLE, J.C.; MORTVEDT, J.J. Zinc uptake by race, as affected by metabolic inhibitors and competing cations. *Plant and Soil*, v. 41, p. 637-646, 1974.
- GÎRD, C.E.; NENCU, I.; COSTEA, T.; DUȚU, L.E.; POPESCU, M.L.; CIUPITU, N. Quantitative analysis of phenolic compounds from *Salvia officinalis* L. leaves. *Farmacia*, v. 62, n. 4, 649-657, 2014.
- GILBERT, B.; ALVES, F.L.; FAVORETO, R. *Bidens pilosa* L. Asteraceae (Compositae; subfamília Heliantheae). *Revista Fitos*, v. 8, n. 1, p. 1-72, 2013.

GOMES, S. C. T. C. *A Diabetes mellitus como determinante em saúde e envelhecimento: o conhecimento do diabético e a presença de complicações da doença*. 2011. Dissertação (Mestrado) - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.

GONÇALVES, C. *Aplicação do método de ativação neutrônica à determinação de mercúrio total e outros elementos de interesse em amostras de solo e sedimento da Serra do Navio e bacia do Rio Vila Nova, Amapá*. 1997. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

GRZEGORCZYK, I.; BILICHOWSKI, I.; OLASIK, E. M.; WISOKÍNSKA, H. In vitro cultures of *Salvia officinalis* L. as a source of antioxidant compounds. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, v. 74, n. 1, p. 17-21, 2005.

GRZEGORCZYK, I.; WYSOKÍNSKA, A.; MATKOWSKI, H. Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry*, v. 104, n. 2, p. 536-541, 2007.

GUIMARÃES, G.M. *Avaliação da concentração de metais e elementos traço em amostras de sedimento do Reservatório Guarapiranga, São Paulo-SP, Brasil*. 2011. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

HASANEIN, P.; ZAHERI, L.M.; Effects of rosmarinic acid on an experimental model of painful diabetic neuropathy in rats. *Pharmaceutical Biology*. v. 52, n. 11, p. 1398-1402, 2014.

HAASE, H.; MARET, W. Fluctuations of cellular, available zinc modulate insulin signaling via inhibition of protein tyrosine phosphatases. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 19, n. 1, p. 37-42, 2005.

HASANI-RANJBAR, S., LARIJANI, B., ABDOLLAH, M., A systematic review of iranian medicinal plants useful in diabetes mellitus. *Archives of Medical Science*, v. 3, n. 4, p. 285-292, 2008.

HAYOUNI, A.; CHRAIEF, I; ABEDRABBA, M; BOUIX, M; LEVEAU, J.Y; MOHAMMED, H; HAMDI, M. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against Salmonella inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, v. 125, n. 3, p. 242-51, 2008.

HEIMANN, J.; BARRON, A.R. Neutron Activation Analysis (NAA). *OpenStax-CNX*, 2014.

HSU, Y. J.; LEE, T. H.; CHANG, C. L. T.; HUANG, Y. T.; YANG, W. C. Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 122, p. 379-383, 2009.

ILKIU-VIDAL, L.H.; SOUZA, J.R. P.; VIANI, R.A. G. Ação de potenciais hidrogeniônicos no crescimento e produtividade de sálvia (*Salvia officinalis* L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 43-47, 2010.

ISLAM, M.N.; JUNG, H.A.; SOHN, H.S.; KIM, H.M.; CHOI, J.S. Potent  $\alpha$ -glucosidase and protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors from *Artemisia capillaris*. *Archives of Pharmacal Research*, v. 36, n. 5, p. 542-552, 2013.

JAYANTHY, G.; SUBRAMANIAN, S. Rosmarinic acid, a polyphenol, ameliorates hyperglycemia by regulating the key enzymes of carbohydrate metabolism in high fat diet – STZ induced experimental diabetes mellitus. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, v. 4, n 3, p. 431-437, 2014.

JOSÉ-CHAGAS, F.N.; VIANNA FILHO, M.D.M.; PESSÔA, L.M.; COSTA, S.S. Aspectos Químicos e Ecológicos de Espécimes Masculinos e Femininos de *Cecropia* Loefl. (Urticaceae). *Revista Virtual de Química*, v. 6,n. 2, p. 432-452, 2014.

KARIM, A.; NOUMAN, M.; MUNIR, S.; SATTAR, S. Pharmacology and Phytochemistry of Pakistani and herbal drugs used for treatment of diabetes. *International Journal of Pharmacology*, v. 7, n. 4, p. 419-439, 2011.

KAZI, T.G.; AFRIDI, H.I.; KAZI, N.; JAMALI, M.K.; ARAIN, M.B.; JALBANI, N.; KANDHRO, G.A. Copper, chromium, manganese, iron, nickel, and zinc levels in biological samples of diabetes mellitus patients. *Biological Trace Element Research*, v. 122, p. 1-18, 2008.

KIANBAKHT, S.; DABAGHIAN, F.H. Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming *Salvia officinalis* L. leaf extract: a randomized placebo. Controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*, v. 21, n. 5, p: 441-446, 2013.

KWON, Y.I.; VATTEM, D.A.; SHETTY, K. Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, v. 15, p. 107-118, 2006.

KOH, E.S.; KIM, S.J.; YOON, H.E.; CHUNG, J.H.; CHUNG, S.; PARK, C.W.; CHANG, Y.S.; SHIN, S.J. Association of blood manganese level with diabetes and renal dysfunction: a cross-sectional study of the Korean general population. *BMC Endocrine Disorders*, v. 14, n. 24, 2014.

KONTOGIANNI, V.G.; TOMIC, G.; NIKOLIC, I.; NERANTZAKI, A.A.; SAYYAD, N.; STOSIC-GRUJICIC, S.; STOJANOVIC, I.; GEROTHANASSIS, I. P.; TZAKOS, A. G. Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food Chemistry*, v. 136, n. 1, p. 120-129, 2013.

LAI, B.Y.; CHEN, T.Y.; HUANG, S.H.; KUO, T.F.; CHANG, T.H.; CHIANG, C.K., YANG, M.T.; CHANG, C.L. *Bidens pilosa* formulation improves blood homeostasis and  $\beta$ -cell function in men: a pilot study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2015, p 1-5, 2015.

LANS, C.A. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 45, n. 2, p. 1-11, 2006.

- LARA, G. M. *Nefropatia diabética: aspectos laboratoriais da determinação laboratorial da albuminúria*. 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.
- LEE, W.C; PENG, C.C.; CHANG, C.H.; HUANG, S.H.; CHYAU, C.C. Extraction of antioxidant components from *Bidens pilosa* flowers and their uptake by human intestinal Caco-2 cells. *Molecules*, v. 18, n. 2, p. 1582-1601, 2013.
- LIMA, K. A. *Análise do processo de construção do conhecimento dietoterápico de pacientes diabéticos atendidos no Programa Saúde da Família do município de Araras-SP*. 2004. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista. São Paulo.
- LIMA, V.B.S. *Estado nutricional relativo ao zinco e sua relação com o estresse oxidativo em pacientes diabéticos tipo 2*. 2011. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Piauí, Teresina
- LU, Y.; FOO, L.Y. Polyphenolics of Salvia - a review. *Phytochemistry*, v. 59, p. 117-140, 2002.
- MAAS, K.D.B. *Biossólido como substrato na produção de mudas de Timburi*. 2010. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Mato Grosso.
- MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; VENTURA, G. M.; FERREIRA E. M.; NEVES, I. F.; VANETTI, C. A.; SILVA, C. Queima foliar e tombamento de mudas em plantas medicinais causadas por *Rhizoctonia solani* AG1 - 1B. *Fitopatologia brasileira*, v. 30, n. 3, p. 302-306, 2005.
- MARQUES, I. M. A. S. C. T. *Zinco, crômio e diabetes mellitus*. 2000. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto.
- MARTINS, N.; BARROS, L.; SANTOS-BUELGA, C.; HENRIQUES, M.; SILVA, S.; FERREIRA, I.C.F.R. Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry*, v. 170, p. 378-385, 2015.
- MASUDA, T.; INABA, Y.; TAKEDA, Y. Antioxidant mechanism of carnosic acid: structural identification of two oxidation products. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 49, n. 11, p. 5560-5565, 2001.
- MATHEW, J.; THOPPIL, J.E. Genotoxicity of methyl parathion and antimutagenic activity of *Salvia officinalis* L. (sage) extracts in swiss albino mice. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, v. 5, n. 2, p. 164-170, 2012.
- MATSUI, T.; EBUCHI, S.; FUJISE, T.; ABESUNDARA, K.J.; DOI, S.; YAMADA, H.; MATSUMOTO, K. Strong antihyperglycemic effects of water-soluble fraction of Brazilian propolis and its bioactive constituent, 3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 27, p. 1797-1803, 2004.
- MAYER, B. *Mecanismos envolvidos nas ações antiúlcera e anti-secretora ácida dos extratos da Salvia officinalis L.* 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MEDA, A.L.; NELL, M.; LOHWASSER, U.; BÖRNER, A.; FRANZ, C.; NOVAK, J. Investigation of antioxidant and rosmarinic acid variation in the sage collection of the genebank in Gatersleben. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n. 6, p. 3813-3819, 2010.

MENDES, R. S.; BREGMAN, R. Avaliação e metas do tratamento de proteinúria. *Revista Brasileira de Hipertensão*, v. 17, n. 3, p. 174-177, 2010.

MIURA, K.; KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N. Apianane terpenoids from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, v. 58, p. 1171-1175, 2001.

MORADABADI, L.; KOUHSARI, S.M.; SANI, M.F.; Hypoglycemic effects of three medicinal plants in experimental diabetes: inhibition of rat intestinal  $\alpha$ -glucosidase and enhanced pancreatic insulin and cardiac GLUT-4 mRNAs expression. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, v. 2, n. 3, p. 387-97, 2013.

MOURA, B. P. *Diabetes tipo 2: avaliação do risco, prevenção, controle e influência do exercício físico regular*. 2011. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

MÜLLER, R. M. L. *Podem ser metais os utilizados no diagnóstico do diabetes mellitus tipo 2?* 2008. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

MURAD, L.D. *Efeitos dos ácidos cafeico e 5-cafeoilquínico sobre o crescimento e captação celular em células de adenocarcinoma de cólon humano*. 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

NATURAL RESOURCES CONSERVATION SERVICE - United States Department of Agriculture. Disponível em: <<http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=SAOF2>>. Acesso em 09 de setembro de 2014.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 2, p. 121-142, 2005.

NICOLOFF, G.; MUTAFTCHIEV, K.; STRASHIMIROV, D.; PETROVA, C. Serum manganese in children with diabetes mellitus type 1. *Diabetologia Croatica*, vol. 33, n. 2, p. 47-51, 2004.

OBARA, S.Y.; ALVES, P.L.C.A. Efeito do pH do solo sobre o desenvolvimento de picão preto. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2., 1990, Botucatu. *Resumos*. p.183.

OBARA, S.Y.; BEZUTTE, A.J.; ALVES, P.L.C.A. Development and mineral content of the hairy beggar-ticks under different pH levels. *Planta Daninha*, vol. 12, n. 1, p. 52-56, 1994.

ONG, K.W.; HSU, A.; TAN, B.K. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochemistry and Pharmacology*, v. 85, p. 1341-1351, 2013.

- PARK, H.J.; DAVIS, S.R.; LIANG, H.Y.; ROSENBERG, D.W.; BRUNO, R.S. Chlorogenic acid differentially alters hepatic and small intestinal thiol redox status without protecting against azoxymethane-induced colon carcinogenesis in mice. *Nutrition and Cancer*, v. 62, n.3, p. 362-70, 2010.
- PATEL, D.; KUMAR, R.; LALOO, D.; HEMALATHA, S. Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, v. 2, n. 3, p. 239-250, 2012.
- PINTO, P.S. *Terpenoides em espécies do gênero Salvia (Lamiaceae)*. 2012. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- POVH, J.A. *Reguladores Vegetais e Bioestimulantes no desenvolvimento de Salvia officinalis L.: avaliações fisiológicas, bioquímicas e fitoquímicas*. 2008. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Botucatu, São Paulo.
- POUCHERET, P.; VERMA, S.; GRYPNPAS, D.; MCNEILL, J.H. Vanadium and diabetes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v. 188: p. 73-80, 1998.
- RAU, O; WURGLICS, M; PAULKE, A; ZITZKOWSKI, J; MEINDL, N; BOCK, A; DINGERMANN, T; ABDEL-TAWAB, M; SCHUBERT-ZSILAVECZ, M. Carnosic acid and carnosol, phenolic diterpene compounds of the labiate herbs rosemary and sage, are activators of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Planta Medica*, v. 72, n. 10, p. 881-887, 2006.
- RUSSO, A; FORMISANO, C; RIGANO, D; SENATORE, F; DELFINE, S; CARDILE, V; ROSSELLI, S; BRUNO, M. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, v. 55, p. 42-47, 2013.
- SÁ, C.M.; RAMOS, A.A.; AZEVEDO, M.F.; LIMA, C.F.; FERNANDES-FERREIRA, M.; PEREIRA-WILSON, C. Sage tea drinking improves lipid profile and antioxidant defences in humans. *International Journal of Molecular Science*, v. 10, n. 9, p. 3937-3950, 2009.
- SALES, C.H. *Avaliação do status de magnésio em pacientes com diabetes mellitus tipo 2*. 2008. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SALEM, I. B.; FEKIH, S.; SGHAIER, H; BOUSSELMI, M; SAIDI, M; LANDOULSI, A; FATTOUCH, S. Effect of ionising radiation on polyphenolic content and antioxidant potential of parathion-treated sage (*Salvia officinalis*) leaves. *Food Chemistry*, v. 141, n. 2, p. 1398-1405, 2013.
- SANCHES, J.T. *Pé Diabético: fisiopatologia, manifestações e principais formas de diagnóstico e rastreio*. 2008. Tese (Mestrado) - Universidade da Beira Interior. Covilhã, Portugal.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da sociedade brasileira de diabetes 2014-2015. Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/images/2015/area-restrita/diretrizes-sbd-2015.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2015.

- SENA, K.C.M.; PEDROSA, L.F.C. Efeitos da suplementação com zinco sobre o crescimento, sistema imunológico e diabetes. *Revista de Nutrição*, v. 18, n. 2, p. 251-259, 2005.
- SHAFIEE-NICK, R.; GHORBANI, A.; BAGHERI, F. V.; RAKHSHANDEH, H. Chronic administration of a combination of six herbs inhibits the progression of hyperglycemia and decreases serum lipids and aspartate amino transferase activity in diabetic rats. *Advances in Pharmacological Sciences*, v. 2012, p. 6. 2012.
- SHAH, S.V.; FONSECA, V.A. Iron and diabetes revisited. *Diabetes care*, v. 34(7), p. 1676-1677, 2011
- SHIBANO, M.; KAKUTANI, K.; TANIGUCHI, M; YASUDA, M.; BABA, K. Antioxidant constituents in the dayflower (*Commelina communis* L.) and their alpha-glucosidase-inhibitory activity. *Journal of Natural Medicines*, v. 62, n. 3, p. 349-353, 2008.
- SILVA, A.F.; SANTOS, E.P.; PENTEADO, P.T.P.S. Análise sensorial de *Salvia officinalis* L. *Visão Acadêmica*, v. 12, n. 1, p. 27-34, 2011.
- SILVA, M. *Participação e homeostase do ferro no diabetes tipo 1 em modelos animais*. 2011. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. Projeto Diretrizes: Diabetes *mellitus* gestacional. 2006. Disponível em: <[http://www.projetodiretrizes.org.br/5\\_volume/14-Diabet.pdf](http://www.projetodiretrizes.org.br/5_volume/14-Diabet.pdf)>. Acesso em: 20 abr. 2015.
- SPITTLES, S.A.; FAILLA, M.L. Influence of sex, strain, and species on trace metal status of insulin-deficient diabetic rodents. *Biological Trace Element Research*, v. 5, p. 489-502, 1983.
- TAG, H.; KALITA, P.; DWIVEDI, P.; DAS A. K.; NAMSA, N. D. Herbal medicines used in the treatment of diabetes mellitus in Arunachal Himalaya, northeast, India. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 141, p. 786-795, 2012.
- THOMPSON, K.H.; GODIN, D.V. Micronutrients and antioxidants in the progression of diabetes. *Nutrition Research*, v. 15, n. 9, p. 1377-1410, 1995.
- THOMPSON, M.; ELLISON, S.L.R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. *Pure & Applied Chemistry*, v. 74, p. 835-855, 2002.
- TUKEY, H.B.; TICKNOR, R.L; HINSVARK, O.N.; WITTWER, S.H.; Absorption of nutrients by stems and branches of woody plants. *Science*, v. 116, n. 3007, p. 167-168, 1952.
- UBILLAS, R.P.; MENDEZ, C.D.; JOLAD, S.D.; LUO, J.; KING, S.R.; CARLSON, T.J.; FORT, D.M. Antihyperglycemic acetylenic glucosides from *Bidens pilosa*. *Planta Medica*, v. 66, n. 1, p. 82-83, 2000.
- VILA, F.C. Identificação *dos flavonoides com atividade antioxidante da cana-de-açúcar*. 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.



VOLPATO, G.P.; DAMASCENO, D.C.; CALDERON, I.M.P.; RUDGE, M.V.C. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do diabetes mellitus. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 4, p. 35-45, 2002.

WANG, X.; LI, H.; FAN, Z.; LIU, Y. Effect of zinc supplementation on type 2 diabetes parameters and liver metallothionein expressions in Wistar rats. *Journal of physiology and biochemistry*, v. 68, n. 4, p. 563-572, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The top ten causes of death. Updated may 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>>. Acesso em: 16 abr. 2015.

WU, C.; ZHANG, X.; ZHANG, X.; LUAN, H.; SUN, G.; SUN, X.; WANG, X.; GUO, P.; XU, X. The caffeoylquinic acid-rich *Pandanus tectorius* fruit extract increases insulin sensitivity and regulates hepatic glucose and lipid metabolism in diabetic db/db mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 25, n. 4, p. 412-419, 2014

YANG, W.C. Botanical, pharmacological, phytochemical, and toxicological aspects of the antidiabetic plant *Bidens pilosa* L. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2014, p. 1-14, 2014.

ZIGIOTTO, D.C. *Compostos fenólicos e atividade antioxidante em plantas Salvia officinalis (L) micropropagadas*. 2007. 54p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ZIMMERMANN, B.F.; WALCH, S.G.; TINZOH, L.N.; STÜHLINGER, W.; LACHENMEIER, D.W. Rapid UHPLC determination of polyphenols in aqueous infusions of *Salvia officinalis* L. (sage tea). *Journal of Chromatography B*, v. 879, n. 32, p. 2459-2464, 2011.