

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE *Peperomia quadrangularis*

Amanda Feitosa Cidade¹, Dhessi Rodrigues³, *Emelly B. S. Santos³, Elza Paula Silva Rocha¹, Gabriela C. Oliveira³, Jamile Mariano Macedo¹⁻⁴, João Vitor Souza de Oliveira³, Jonas Soares de Mesquita³, Maria Vitória Dunice Pereira³, Minelly Azevedo da Silva¹, Nilton Fagner de Araújo¹, Roger Lafontaine Mesquita Taborda² e Rebeca da Costa Rodrigues³.

¹ Pesquisadores do Instituto Federal de Rondônia Campus Calama, Porto Velho/RO;

² Laboratório de Microbiologia FIOCRUZ/CEPEM – Porto Velho/RO;

³ Estudantes de IC do Instituto Federal de Rondônia Campus Calama, Porto Velho/RO;

⁴ Orientadora - Instituto Federal de Rondônia Campus Calama, Porto Velho/RO

Resumo:

Este trabalho reporta uma investigação analítica (análises físico-químicas e microbiológicas) da espécie *Peperomia quadrangularis*, visando a determinação de parâmetros de qualidade dos materiais estudados. Os resultados foram expressos a partir da média das triplicatas. Embora as *Piperaceae* sejam muito utilizadas pela população (tratamento de enfermidades, culinária, plantas ornamentais, etc) a Farmacopeia Brasileira não contém monografia sobre as espécies dessa família. A espécie *Peperomia quadrangularis* é nativa da América do Sul, de valor ornamental, cultivada para fins comerciais na Coreia, não apresenta nenhum estudo químico e nenhum registro sobre o uso dessa espécie na medicina popular. A escolha pela espécie foi baseada nos ensaios fitoquímicos e biológicos relatados na literatura que visam confirmar o potencial medicinal das espécies de *Peperomia*.

Palavras-chave: Fitoterápicos; Drogas vegetais; *Piperaceae*.

Apoio financeiro: Instituto Federal de Rondônia – IFRO; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Introdução:

Historicamente as plantas sempre foram utilizadas na alimentação, agronomia, medicina, cosmética e perfumaria. Atualmente, o interesse pela cultura do uso de produtos naturais e seus derivados tem se tornado cada vez mais evidente, dentre eles os fitoterápicos e as drogas vegetais.

Os fitoterápicos são produtos industrializados de baixo custo elaborados a partir de matérias-primas vegetais ativas. Já a droga vegetal corresponde a planta medicinal seca, triturada, estabilizada ou não (VIEIRA, F. P, 2013). Nos últimos anos houve um aumento considerável no consumo das diferentes formas de fitoterápicos (xaropes, tinturas e outros) (Anvisa, 2010; Anvisa, 2011a, Anvisa, 2011b). Com isso, surgiu a necessidade de exigir normalização desses fitoterápicos e drogas vegetais, visando garantir a segurança no uso e a eficácia terapêutica aliada à qualidade do produto (Carvalho *et al*, 2013).

Diferentes fatores podem alterar a qualidade e quantidade de constituintes químicos presentes em uma droga vegetal (época, local, método de extração, e etc). Desta forma, o estudo fitoquímico, farmacológico, o controle de qualidade (análises físico-químicas) e ausência de contaminantes (análises microbiológicas) da droga vegetal são de extrema importância (Anvisa, 2010; Anvisa, 2011a).

O material a ser utilizado deve ter sua qualidade garantida desde a coleta até a validação de técnicas analíticas que visem o controle de qualidade. A análise físico-química e microbiológica de extratos e tinturas além de garantir o uso seguro e eficaz das amostras, são requisitos preliminares para obtenção de um padrão de qualidade para um possível produto.

A *Peperomia quadrangularis* é uma espécie nativa da América do Sul de valor ornamental devido às suas folhas listradas. Seu domínio de ocorrência no Brasil é na região Amazônica. É cultivada para fins comerciais na Coreia, e cresce bem nas condições domésticas (Han et al., 2014; Carvalho-Silva, 2008; Melo, Guimarães & Alves, 2014). Baseado no levantamento bibliográfico, não foi encontrado nenhum estudo químico de atividade biológica ou registro sobre o uso da planta na medicina popular.

Tendo em vista os ensaios fitoquímicos e biológicos relatados na literatura que visam confirmar o potencial medicinal do gênero *Peperomia*, o objetivo deste trabalho foi realizar uma investigação analítica (análises físico-químicas e microbiológicas) do material vegetal, visando a determinação de parâmetros de qualidade do material estudado.

Metodologia:

O material vegetal foi coletado no município de Colorado do Oeste/RO e encaminhado para a realização das análises físico-químicas no Laboratório de Físico-Química do Instituto Federal de Rondônia, campus Porto Velho-Calama. As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia/FIOCRUZ/CEPEM em Porto Velho. Ambas seguindo as orientações da Farmacopeia Brasileira, volume 1, 5ª edição, com algumas adaptações. Os resultados foram expressos a partir da média obtida.

Embora as *Piperaceae* sejam muito utilizadas pela população, não há monografia sobre as espécies

dessa família na Farmacopeia Brasileira.

Obtenção da tintura e do extrato bruto

Através da maceração da folha, foi preparada a tintura na proporção 1:10 (material pulverizado em álcool 70% - m/v). Em seguida, a tinturas foi filtrada, armazenada em frasco âmbar hermeticamente fechado.

Determinação da distribuição granulométrica do pó

Foram transferidas 25g de amostra para o agitador durante 15 minutos em velocidade 30Hz. Os tamises foram utilizados com as malhas: 8, 10, 30, 40, 50 e 100 mesh, equivalente a 2,36mm, 2mm, 600µm, 425µm, 300µm e 150µm, respectivamente. Resultado em %.

Determinação da perda por dessecação

A análise foi realizada com algumas modificações. Cerca de 1g do material vegetal triturado foi transferido para uma cápsula de porcelana previamente tarada. O mesmo foi secado durante 2h em estufa à 105°C, e em seguida resfriado em dessecador e pesado. O teste foi realizado até a obtenção do peso constante.

Determinação de cinzas totais

Foram transferidas cerca de 3g do material triturado para um cadinho previamente tarado para incineração em mufla com o aumento gradativo de temperatura (200 °C - por 30min; 400 °C – por 60min e 600 °C – por 90min). Após isso, foram resfriados em dessecador e pesados. A porcentagem de cinzas foi calculada em relação a droga seca ao ar.

Determinação da densidade relativa e pH

A partir do método do picnômetro, foi feita a calibração com água e por fim pesado com a tintura. O cálculo do peso da amostra foi realizado através da diferença das massas obtidas, ambas a 20°C. Para determinação do pH foi utilizado um pHmetro de bancada calibrado, cujo eletrodo foi inserido diretamente na amostra à temperatura de 25°C.

Determinação da porcentagem de resíduo seco total

Foi pipetado 1mL da tintura para as cápsulas de porcelana previamente taradas, que foram colocadas em banho maria até a secura da tinta e em seguida levadas à estufa a 110°C até a obtenção do peso constante. Após a dessecação, foram pesadas e as porcentagens de resíduo seco foram calculadas.

Análise Microbiológica

O Extrato Bruto Etanólico foi diluído em DMSO 2% e filtrado (0,22µm). Em seguida, 50µL dessa solução foram incubados em meio Luria-Bertami (LB) líquido e ágar Sabouraud dextrose a 36,5°C (±1°C) por até 48 horas. Os testes foram realizados em condições aeróbicas e anaeróbicas para verificação da probabilidade de existência de fungos e bactérias nas amostras.

Resultados e Discussão:

Neste estudo foram realizadas as análises físico-químicas da tintura e do extrato bruto preparados com as folhas de *P. quadrangularis*. Os resultados das análises físico-químicas estão descritos na Tabela 1. Cabe ressaltar que os valores aceitáveis para a densidade, pH e porcentagem de resíduo total seco para essa espécie ainda não foram estabelecidos em nenhuma monografia da Farmacopeia Brasileira.

Tabela 1 – Resultados das análises físico-químicas da Espécie *Peperomia quadrangularis*.

ANÁLISES	Tamis (mesh)	Partículas Retidas %
Determinação da distribuição de granulométrica do pó	Tamis 8	3,57%
	Tamis 10	23,56%
	Tamis 30	60,24%
	Tamis 40	10,45%
	Tamis 50	0,89%
	Tamis 100	0,34%
Determinação de perda por dessecação	13,70%	
Determinação de Cinzas totais	28,27%	
Determinação de Densidade	0,8678 g/mL ⁻¹	
Determinação de pH	6,43	
Determinação da porcentagem de resíduo seco total	22,64%	

Pelos resultados da análise granulométrica, o pó da espécie *P. quadrangularis* pode ser classificado como pó grosso conforme a recomendação da Farmacopeia Brasileira, 5ª edição.

O processo de moagem da droga é extremamente importante. Segundo Sharapin (2000) a moagem tem como finalidade diminuir o tamanho das partículas para auxiliar no processo de extração das drogas vegetais. A extração do material completo ou fragmentado pode interferir diretamente no resultado da extração. O material vegetal ao ser fragmentado fica com suas membranas celulares que atuam como barreiras parcialmente destruídas, o que facilita a dissolução de constituintes celulares no solvente. Porém, com uma fragmentação excessiva, ou seja, a formação de pós finos ou extremamente finos, o processo de filtração pode

ficar comprometido. O pó fino tende a se compactar dificultando a passagem do solvente o que pode vir a ocasionar uma extração incompleta, sem contar que o processo de filtração é muito lento. Desta forma os pós grossos ou moderadamente grossos são os mais recomendados para o processo de extração. Em relação ao tamanho das partículas, a espécie *P. quadrangularis* demonstrou resultados que viabilizam uma excelente extração dos seus constituintes químicos.

A determinação de perda por dessecação tem como finalidade determinar a quantidade de substância volátil de qualquer natureza eliminada nas condições especificadas na monografia. Os resultados desta análise asseguram a estabilidade química e microbiológica das amostras, tendo em vista que os valores especificados na Tabela 1 podem contribuir para degradação das substâncias por hidrólise ou proliferação de fungos e bactérias. Em espécies que não estão descritas na monografia da Farmacopeia Brasileira o teor de dessecação aceitável é de 8 a 14% (Farias, 2010). Os valores da perda por dessecação das espécies são aceitáveis, pois estão dentro dos limites descritos na literatura.

A determinação de cinzas totais verifica a presença de matéria inorgânica presentes nas substâncias orgânicas. Quanto mais baixos os valores obtidos, menor é a quantidade de compostos inorgânicos não voláteis na amostra. A amostra demonstrou valores superiores ao que é preconizado (2%) (Farias, 2010; Farmacopeia, 2010).

A determinação da densidade demonstrou que as amostras estão com os valores bem próximos ao da água ($d_{H_2O} = 1g/ml^{-1}$). Esse resultado pode ser justificável tendo em vista que as tinturas foram preparadas com a utilização de EtOH 70% (70% álcool e 30% água). A densidade da tintura pode apresentar valores aceitáveis de 0,87 a 0,98 g/ml (Prista *et al*, 1990). Desta forma, os valores da amostra analisada estão na faixa de normalidade.

A determinação do pH é importante, já que o mesmo está relacionado com o crescimento de microrganismos que deterioram o material vegetal. O resultado da análise mostra que a espécie *Peperomia quadrangularis* está suscetível à contaminação, já que a maioria das bactérias cresce na faixa de 6,0 a 8,0. Outra justificativa para o caráter ácido da tintura obtida dessa espécie é a presença de alguns constituintes com essas características (exemplo: fenóis, flavonoides, etc.).

A determinação da porcentagem de resíduos secos para plantas medicinais visa garantir a autenticidade, estabilidade e segurança do material vegetal. A análise de determinação de resíduo seco permite visualizar o potencial de extração do líquido. No que diz a respeito a espécie *P. quadrangularis* o resultado foi de 22,64% bem diferente do estudo realizado com a *Peperomia pellucida* que apresentou 1,39% de resíduo seco para solução hidroalcoólica 70% (Silva *et al*, 2013).

Análises Microbiológicas

Verificou-se o crescimento microbiológico no extrato bruto etanólico das folhas *P. quadrangularis* (EBBETOHPQ). Conforme estabelece a Farmacopeia Brasileira os fármacos devem ser isentos de fungos e de outras contaminações. A porcentagem aceitável de elementos estranhos não pode ser superior a 2% m/m (Farmacopeia, 2010).

Conclusões:

A avaliação desses resultados traz importantes parâmetros que permitem avaliar a capacidade de transformação e qualidade dos extratos. Ao conhecer as propriedades da matéria-prima é possível estabelecer especificações (monografia) para transformação e controle de qualidade da droga vegetal.

Referências bibliográficas

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2010). **Farmacopeia Brasileira**, vol. 1, 5a. ed. Brasília: Anvisa.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2011a). **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**, 1a. ed. Brasília: Anvisa.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2011b). **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira**, 2a. ed. Brasília: Anvisa, 2011b.

CARVALHO-SILVA, M. (2008). *Peperomia Ruiz & Pav. no Brasil: morfologia e taxonomia do subgênero Rhynchophorum (Miq.) Dahlst. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica*, Escola Nacional de Botânica Tropical, do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2008. Disponível em: https://aplicacoes.jbrj.gov.br/enbt/posgraduacao/resumos/2008/Micheline_Silva.pdf. Acesso realizado em: 04 de novembro de 2017, às 10h30min.

DE QUEIROZ, George Azevedo; GUIMARÃES, Elsie Franklin; DE BARROS, Ana Angélica Monteiro. **O gênero Peperomia Ruiz & Pav (Piperaceae) na Serra da Tiririca, Rio de Janeiro, Brasil**. Acta Biológica Catarinense, v. 1, n. 2, 2014.

FARIAS M. R. (2010) **Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais**. In SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da Planta ao medicamento. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis.UFRGS.

MARTINS, A. B.; SACRAMENTO, L. V **Análise microscópica e física para controle de qualidade primário de matéria**

prima vegetal pulverizada. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16, 2004, Ilha Solteira. Anais. Iha Solteira: UNESP, 2004.

PESSINI, G. L.; ALBIERO, A. L. M.; MOURAO, KÁ. S. M.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G. **Análise farmacognóstica de Piper regnellii (Miq.) C. DC. var. pallescens (C. DC.) Yunck: aspectos botânicos e enfoque físico-químico preliminar.** Revista Acta Farmacéutica Bonaerense; vol. 22, no. 3. 2003.

PRISTA, L. N.; Alves, A. C.; Morgado, R. M. R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica.** 3ª ed, v. II. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian, 1990, p. 183-207.

Santos, A. L. R. (2007). **Avaliação do sistema conservante em formulação com extrato hidroalcoólico de Schinus terebinthifolius Raddi - Anacardiaceae. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)** – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências da Saúde. Natal-RN. Disponível em: <ftp://ftp.ufrn.br/pub/biblioteca/ext/bdtd/AnaLRS.pdf>. Acesso realizado em: 16 de dezembro de 2017, às 19h12min.

SHARAPIN, N. (2000). **Fundamentos de Tecnologia de Procdutos Fitoterápicos.** Santa Fé de Bogotá- Colombia: CYTED, 248p. E-book. Acesso realizado em: 16 de dezembro de 2017, às 14h11min.

SILVA, R. M. F.; RIBEIRO, J. F. A.; FREITAS, M. C. C.; ARRUDA, M. S.; NASCIMENTO, M. N.; BARBOSA, W. L. R.; ROLIM NETO, P. J. **Caracterização físico-química e análises por espectrofotometria e cromatografia de Peperomia pellucida L. (H. B. K.).** Rev. bras. plantas med. [online]. 2013, vol.15, n.4, suppl.1, pp.717-726. ISSN 1516-0572. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000500012>.

SOUTO A.L. (2015). **Análise Metabolômica de Peperomia obtusifolia (L.) A. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos - UFPB.** Orientador : Prof . Dr . José Maria Barbosa Filho Coorientador: Prof . Dr . Josean Fechine Tavares João Pessoa – PB. Disponível em: <http://tede.biblioteca.ufpb.br/handle/tede/8052>. Acesso realizado em: 27 de setembro de 2017, às 18h 21min.