

ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DE *Piper alatabaccum* TREL. E YUNCKER

Amanda Feitosa Cidade¹, Dhessi Rodrigues², Emelly B. S. Santos², Elza Paula Silva Rocha¹, Gabriela C. de Oliveira^{*2}, Jamile Mariano Macedo¹⁻³, João Vitor Souza de Oliveira², Jonas Soares de Mesquita², Maria Vitória Dunice Pereira², Minelly Azevedo da Silva¹, Nilton Fagner de Araújo¹ e Rebeca da Costa Rodrigues².

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

² Estudantes de IC do Instituto Federal de Rondônia Campus – Calama, Porto Velho/RO

³ Orientadora - Instituto Federal de Rondônia Campus – Calama, Porto Velho/RO

Resumo:

Este artigo teve como objetivo retratar as análises físico-químicas e microbiológicas da espécie *Piper alatabaccum*, popularmente conhecida como “João brandinho”. As análises foram realizadas em triplicata seguindo as orientações da Farmacopeia Brasileira, volume 1, 5ª edição, com algumas adaptações. Embora as espécies de *Piper* sejam muito utilizadas pela população, a Farmacopeia Brasileira não contém monografia sobre a espécie. A avaliação desses resultados trouxe importantes parâmetros que permitem avaliar a capacidade de transformação e qualidade do material vegetal. Ao conhecer as propriedades da matéria-prima é possível estabelecer especificações (monografia) para transformação e controle de qualidade da droga.

Palavras-chave: *Piperaceae*; droga vegetal; caracterização.

Apoio financeiro: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia IFRO; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Introdução:

Piper alatabaccum é conhecida popularmente como “João brandinho”, ocasionalmente encontrada na Amazônia, região norte do Brasil, no estado do Amazonas, Amapá, Pará e Rondônia (BFG, 2015; E Silva, 2013). Suas raízes são utilizadas popularmente como anestésico local, possivelmente pela presença de amidas em sua composição química (Santos *et al.*, 2013; Santana, 2012).

O levantamento bibliográfico da espécie *P. alatabaccum* demonstrou que já foram realizadas as seguintes atividades: atividade larvicida (*Anopheles darlingi*) com os extratos e substâncias isoladas (Piplartina, piplartina-di-hidropiplartina e 5,5',7-trimetoxi-3',4'-metilenodioxiflavona); atividade inseticida (*Hypothenemus hampei*) do extrato acetônico; avaliação da atividade larvicida do extrato etanólico das folhas, fração de acetato de etila das folhas, extrato etanólico das raízes, óleo essencial das folhas, as substâncias isoladas das folhas; piplartina e 5,5',7-trimetoxi-3',4'-metilenodioxiflavona e dilapiol componente majoritário do óleo essencial sobre *Aedes aegypti*; Atividade antifúngica do óleo essencial das folhas (Trindade *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2013; Santana, 2012; Nascimento, 2011).

Em vista da importância biológica desta planta, procurou-se desenvolver parâmetros que auxiliem no controle de qualidade, fornecendo dados que favoreçam e incentivem a elaboração de sua monografia farmacopéica, o que contribuirá para o uso mais seguro e eficaz deste fitoterápico.

Metodologia:

O material vegetal foi coletado no município de Burity/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/FIOCUZ/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 tintura foi filtrada e armazenada em frasco âmbar hermeticamente fechado.

Determinação da distribuição granulométrica do pó

Foram transferidas 25g de amostra para o agitador por 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. O resultado expresso em porcentagem.

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:

Os resultados das análises físico-químicas da espécie estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Características físico-químicas de *Piper alatabaccum*.

ANÁLISES	RESULTADOS	
	Tamis (mesh) – Partículas Retidas %	
Determinação da distribuição de granulometria em pós	Tamis 8	2,75%
	Tamis 10	14,56%
	Tamis 30	67,8%
	Tamis 40	9,46%
	Tamis 50	4,14%
	Tamis 100	1,16%
Determinação de perda por dessecação	8,20%	
Determinação de Cinzas totais	9,822%	
Determinação de Densidade	0,8113g/mL ⁻¹	
Determinação de pH	4,82	
Determinação da porcentagem de resíduo seco total	18,7%	

Pelos resultados da análise granulométrica os pós da espécie *Piper alatabaccum* podem ser classificados como pó grosso conforme a recomendação da Farmacopeia Brasileira, 5ª edição. 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 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 as duas espécies demonstram 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 valores acima do

especificado podem contribuir para degradação das substâncias por hidrólise ou proliferação de fungos e bactérias (Farias, 2010).

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. As amostras demonstraram 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 (dH₂O= 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 de tinturas pode apresentar valores aceitáveis de 0,87 a 0,98 g/ml (Prista *et al.*, 1990). Desta forma, os valores das amostras analisadas 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 das análises demonstra que não está descartada a contaminação para a espécie *Piper alatabaccum* já que existem grupos de bactérias que crescem na faixa do pH ácido (Hoffmann, 2001). Outra justificativa para o caráter ácido das tinturas obtidas dessa espécie é a presença de alguns constituintes com essa característica (exemplo: fenóis, flavonoides, etc.).

A determinação da porcentagem de resíduo seco 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 respeito ao resultado da espécie *Piper alatabaccum* (18,7%), é possível afirmar que está dentro da faixa aceitável quando comparado com resultado obtido para folhas de outra espécie da mesma família, *Piper regnellii* demonstrou que a solução hidroalcoólica 70% apresentou 16,27% de resíduo seco (Pessini *et al.*, 2003).

Análises Microbiológicas

Não foi verificado crescimento bacteriano e microbiológico na espécie *Piper alatabaccum*.

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.

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.

SHARAPIN, N. (2000). **Fundamentos de Tecnologia de Produtos Fitoterápicos**. Santa Fé de Bogotá-Colombia:CYTED, 248p. E-book. Acesso realizado em: 16 de dezembro de 2017, às 14h11.

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.

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/btd/AnaLRS.pdf>. Acesso realizado em: 16 de dezembro de 2017, às 19h12min.

MARTINS, A. B.; SACRAMENTO, L. V. (2003). **Análise microscópica e física para controle de qualidade primário de matéria prima vegetal pulverizada**. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16, 2004, Ilha Solteira. Anais. Ilha Solteira: UNESP.

NASCIMENTO, K. M. (2011) **Composição química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de espécies de Piper frente a cepas de Candida spp**. Dissertação de Mestrado da Universidade Estadual do Ceará. Disponível em: <http://www.uece.br/ppgcv/dmdocuments/kalinenascimento.pdf>.

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

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

SANTANA, H. T. (2012) **Estudo fitoquímico de Piper alatabaccum Trel & Yunck, 1950 e avaliação da atividade larvicida sobre Aedes aegypti Linnaeus, 1762 (Diptera: culicidae) em condições de campo simulado.** Dissertação apresentada a Universidade Federal de Rondônia. Disponível em: [http://www.pgbioexp.unir.br/downloads/2807_estudo_fitoquimico_de_piper_alatabaccum_\(hiamani_santana_&_valdir_alves_facundo\).pdf](http://www.pgbioexp.unir.br/downloads/2807_estudo_fitoquimico_de_piper_alatabaccum_(hiamani_santana_&_valdir_alves_facundo).pdf). Acesso realizado em 09 de novembro de 2017, às 22h32min

TRINDADE, F. T. T.; STABELI, R. G.; FACUNDO, V. A.; CARDOSO, C. T.; SILVA, M. A.; GIL, L. H. S.; SILVA-JARDIM, I.; ALMEIDA E SILVA, A. (2012). **Evaluation of larvicidal activity of the methanolic extracts of Piper alatabaccum branches and P. tuberculatum leaves and compounds isolated against Anopheles darlingi.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 01 October 2012, Vol.22(5), pp.979-984