

ESTUDO COMPARATIVO DO EMPREGO DE REATOR ENCAMISADO, ULTRA-SOM E MACERAÇÃO NO PREPARO DE EXTRATOS DE *Alternanthera maritima*.

**Ana Paula Teixeira¹, Cláudia Regina F. Souza², Wanderley Pereira de Oliveira²,
Diones Aparecida Dias², Marcos José Salvador^{1,2*}.**

¹Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, 12244-000, São José dos Campos – SP, Brasil, mjsalvador1531@yahoo.com.br

²Departamentos de Ciências Farmacêuticas e de Física e Química, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo (USP), Av. do café, s/n, 14040903, Ribeirão Preto–SP

Resumo: No preparo de extratos, diferentes fatores podem influenciar os processos extrativos, tais como temperatura, tempo de extração, polaridade dos solventes extratores, estado de divisão das drogas, dentre outros. Neste trabalho foi realizado o estudo comparativo de três métodos de extração (reator encamisado, com tempo de extração de 30 e 60 min, ultra-som, 30 e 60 min e maceração, 720 e 1440 min) para o preparo de extratos padronizados de *Alternanthera maritima*, uma planta brasileira com potencial atividade antimicrobiana e antioxidante, utilizando como líquidos extratores água destilada, metanol e hexano. Os resultados mostraram que o emprego do reator encamisado e do ultra-som possibilitou uma otimização do processo de preparo dos extratos, com manutenção do peso em massa dos extratos, diminuindo significativamente o tempo de extração quando comparado como método clássico de maceração.

Palavras-chave: *Alternanthera maritima*, Métodos de extração, Reator encamisado, Ultra-som, Maceração.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde.

Introdução

Parâmetros de qualidade são estabelecidos para a matéria-prima vegetal, a fim de garantir a segurança e a eficácia dos medicamentos fitoterápicos. Os métodos utilizados na obtenção de extratos podem influenciar diretamente a segurança e a eficácia do produto, evidenciando assim a necessidade de um controle severo destes métodos de maneira a assegurar à qualidade do insumo visando sua aplicação em formulações farmacêuticas e/ou a obtenção de fitoterápicos.

A extração é o primeiro passo para a obtenção e purificação de constituintes químicos de espécies vegetais. Diferentes fatores podem influenciar os processos extrativos: estado de divisão das drogas (quanto menor o tamanho das partículas maior a superfície de contato), agitação (promove a renovação do solvente em contato com a droga aumentando a taxa de difusão e podendo abreviar a duração do processo extrativo), a temperatura (promove um aumento da solubilidade dos princípios ativos), natureza do líquido extrator (considerando-se as propriedades extrativas, adequação tecnológica e inocuidade fisiológica do solvente), influencia do pH e tempo de extração (SIMÕES et al., 2004; PRISTA et al., 1995).

A extração de princípios ativos de plantas medicinais pode ser realizada por inúmeros métodos extrativos que podem ser classificados

em métodos clássicos, como a maceração e a percolação, e métodos mais modernos, como extração assistida por ultra-som, fluido supercrítico e extratores ou reatores com controle de temperatura e agitação (SCHINOR et al., 2004; THOMA et al., 2001). A maceração é uma técnica tradicional de extração que requer um período extenso (horas ou dias) e apresenta pouca eficiência quando comparada ao uso do reator encamisado e ultra-som. Esses últimos são métodos mais modernos e podem ser uma ótima alternativa para otimizar o processo de extração, já que resultam no aumento da taxa de massa extraída em um menor tempo (minutos).

O gênero *Alternanthera* (Gomphreneae, Amaranthaceae) compreende 80 espécies das quais muitas são tradicionalmente utilizadas para o tratamento de infecções ou apresentam propriedades analgésica, imunomodulatórias ou antimicrobianas (SIQUEIRA, 1987). *Alternanthera maritima* é uma herbácea comumente encontrada nas restingas brasileiras e têm sido utilizada no combate a infecções (SALVADOR et al., 2004; MORAES et al., 1994). Estudos químicos prévios têm demonstrado a ocorrência de flavonóides, saponinas e esteróides como ativos majoritários deste vegetal (SALVADOR & DIAS, 2004). Entretanto, até o momento, nenhum estudo tecnológico para padronização da matéria-prima deste vegetal foi encontrado. Assim, o presente

trabalho descreve um estudo comparativo do emprego de três métodos de extração (reator encamisado, ultra-som e maceração) para o preparo de extratos padronizados de *A. maritima*.

Materiais e métodos

Coleta e classificação do material vegetal

Alternanthera maritima (Mart.) St. Hil., partes aéreas, foi coletada pelos Drs. Diones Aparecida Dias e Marcos José Salvador no seu habitat natural, Restinga de Marica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, em dezembro de 1998 sendo identificada pelo Dr. Josafá Carlos de Siqueira ("Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil"). Uma amostra da espécie foi depositada no Herbário do "Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, SP, Brasil". (sob número de registro SPFR 02968).

Métodos de extração

a) Maceração

Para o método de maceração foi utilizado 1,0 g de pó do vegetal e 20 mL de solvente (hexano, metanol ou água destilada). A mistura foi deixada em repouso por 720 ou 1440 minutos de extração, à temperatura ambiente, em frasco fechado. Após homogeneização, filtragem e evaporação do solvente os extratos foram pesados e determinou-se a eficiência de extração em termos de massa (g). Todos os procedimentos foram realizados em triplicata.

b) Ultra-som

No método de sonificação, foram utilizadas as mesmas quantidades de pó e solventes extratores, sendo a mistura deixada em banho de ultra-som, com frequência de 40 kHz, por 30 ou 60 minutos de extração à temperatura de 30°C, em frasco fechado. Após homogeneização, filtragem e evaporação do solvente os extratos foram pesados e determinou-se a eficiência de extração em termos de massa (g). Todos os procedimentos foram realizados em triplicata.

c) Reator encamisado

No método utilizando o sistema de extração composto por um agitador magnético, um extrator encamisado e um banho de aquecimento, foram utilizadas as mesmas quantidades de pó e solventes extratores, sendo a mistura deixada no reator com agitação constante (100 rpm), por 30 ou 60 minutos de extração à temperatura de 30°C, em frasco fechado. Após homogeneização,

filtragem e evaporação do solvente os extratos foram pesados e determinou-se a eficiência de extração em termos de massa (g). Todos os procedimentos foram realizados em triplicata.

Análise estatística

Os dados obtidos nos ensaios foram calculados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey. Os valores de $P < 0.05$ foram considerados significativos.

Resultados

Na escolha de um método extrativo, deve-se avaliar a eficiência de extração, a estabilidade das substâncias extraídas, a disponibilidade e viabilidade de ampliação de escala dos métodos de extração desenvolvidos e validados e o custo operacional do processo. Neste estudo o método de extração convencional da maceração foi comparado com outros dois métodos, ultra-som e reator encamisado. A Tabela 1 apresenta o rendimento médio de massa dos extratos, obtidos em cada método de extração (reator encamisado, ultra-som e maceração), utilizando diferentes solventes extratores (água destilada, metanol e hexano).

Tabela 1 – Rendimento médio de massa, em grama (g), de extratos de *Alternanthera maritima*, obtidos utilizando-se três métodos de extração (reator encamisado, ultra-som e maceração) e diferentes líquidos extratores (água destilada, metanol e hexano)*.

Líquido extrator	Reator encamisado		Ultra-som		Maceração	
	30 min*	60 min	30 min	60 min	720 min	1440 min
Água destilada	0,231 ^β	0,245 ^β	0,218 ^β	0,241 ^β	0,214 ^β	0,223 ^β
Metanol	0,159 [∞]	0,197 ^π	0,121 ^ε	0,130 ^ε	0,165 [∞]	0,170 [∞]
Hexano	0,023 ^a	0,029 ^b	0,018 ^c	0,016 ^c	0,018 ^c	0,017 ^c

*Estatística: ($\beta \neq \alpha$) ou ($\infty \neq \pi \neq \epsilon$) ou ($a \neq b \neq c$), $P < 0,05$ (ANOVA e Teste de Tukey). *Tempo de extração em minutos.

Nas figuras 1, 2 e 3 estão apresentados os pesos em massa dos extratos obtidos nos três diferentes métodos de extração quando o solvente extrator foi a água destilada, metanol e hexano, respectivamente.

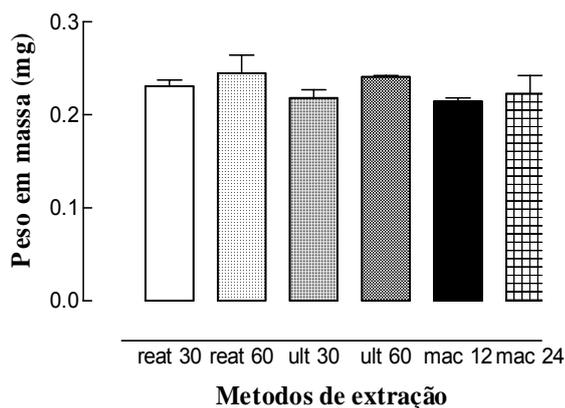


Figura 1 – Peso em massa (g) dos extratos aquosos de *Alternanthera maritima* obtidos por três diferentes métodos de extração.

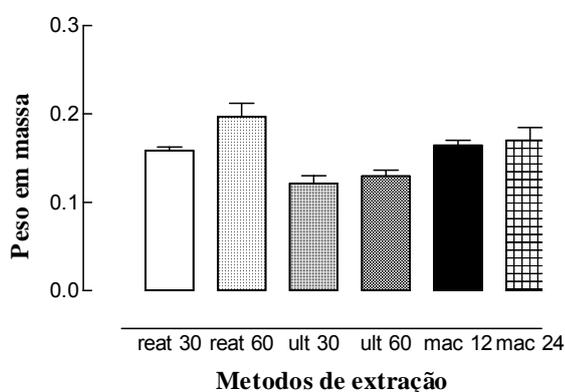


Figura 2 – Peso em massa (g) dos extratos metanólicos de *Alternanthera maritima* obtidos por três diferentes métodos de extração.

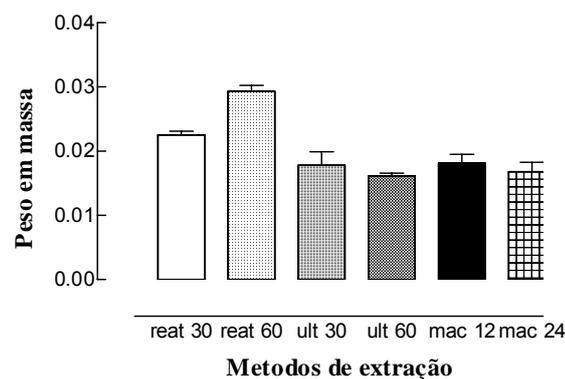


Figura 3 – Peso em massa (g) dos extratos hexânicos de *Alternanthera maritima* obtidos por três diferentes métodos de extração.

Discussão

Métodos de extração convencional, como a maceração, necessitam de mais tempo para obterem os mesmos rendimentos em massa que os métodos mais modernos empregando, por

exemplo, o ultra-som e reator encamisado que utilizam agitação e vibração para facilitar a dissolução dos constituintes do material vegetal pelo solvente extrator. O experimento realizado mostrou que os rendimentos em massa obtidos nos três métodos de extração apresentam valores próximos entre si (Tabela 1) para cada um dos solventes extratores empregados. Estes resultados estão em concordância com dados da literatura para outras espécies vegetais (SCHINOR et al., 2004 e THOMA et al., 2001).

Pela análise estatística pode-se verificar que não houve diferença significativa em termos de massa entre os métodos de ultra-som, maceração e reator encamisado, quando o solvente extrator foi a água destilada (Figura 1). O mesmo não foi observado quando os solventes extratores foram metanol e hexano. Utilizando-se o metanol, verificou-se diferença significativa no rendimento em massa para os extratos obtidos empregando, por exemplo, o ultra-som e a maceração (Tabela 1). De forma mais intensa observou-se variação nos extratos obtidos empregando hexano como solvente extrator. Isto pode ter ocorrido devido às características físico-químicas dos constituintes presentes no material vegetal. Como descrito por SALVADOR & DIAS (2004) há ocorrência em *A. maritima* de substâncias polares tais como saponinas e flavonóides glicosilados com unidades mono e dissacarídicas. Além disso, este vegetal é uma planta do ambiente marinho (Restinga), estando adaptada a diferentes fatores edáficos (salinidade, luminosidade, pH do solo, etc.) o que pode contribuir para o acúmulo de substâncias polares em sua biomassa. Assim, utilizando-se solventes polares (hidrofílicos), tais como água destilada e metanol, verificou-se menor variabilidade em termos de massa dos extratos obtidos do que quando se utilizou solvente apolar (lipofílico) como hexano, situação em que se obteve maior variabilidade no rendimento dos extratos, possivelmente devido a presença minoritária de constituintes lipofílicos no material vegetal.

Conclusão

- Os resultados mostraram que o emprego do reator encamisado e do ultra-som otimizaram o processo de extração, apresentando bom rendimento de transferência de massa em menor tempo de extração, quando comparados ao método clássico de maceração para obtenção de extratos padronizados de *A. maritima*.
- Verificou-se que a polaridade do solvente extrator e as características físico-químicas dos constituintes a serem

extraídos do material vegetal são variáveis que podem influenciar diretamente o rendimento em massa dos extratos obtidos, independentemente do método de extração utilizado.

ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, p. 137-142, 2001.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Josafá Carlos de Siqueira pela identificação do material vegetal e à FAPESP e ao CNPq pelo suporte financeiro.

Referências

MORAES, V.L.G.; SANTOS, L.F.M; CASTRO, S.B.; LOUREIRO, L.H.; LIMA, O.A.; SOUZA, M.L.M.; YIEN, L.M.K.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S.S. Inhibition of lymphocyte activation by extracts and fractions of *Kalanchoe*, *Alternanthera*, *Paullinia* and *Mikania* species. **Phytomedicine**, v.1, p.199-204, 1994.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGATO, R. Tecnologia Farmacêutica, v. II, 4 ed., Fundação Calouste Gulbenkian, 1995.

SALVADOR, M.J.; DIAS, D.A. Flavone C-glycosides from *Alternanthera maritima* (mart.) St. Hil. (Amaranthaceae). **Biochemical Systematic and Ecology**, v.32, p.107-110, 2004.

SALVADOR, M.J.; ZUCCHI, O.L.A.D.; CANDIDO, R.C.; ITO, I.Y.; DIAS, D.A. In vitro antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents of *Alternanthera maritima* (Amaranthaceae). **Pharmaceutical Biology**, v.42, p.138-148, 2004.

SCHINOR, E.C.; SALVADOR, M.J.; TURATTI, I.C.; ZUCCHI, O.L.A.D.; DIAS, D.A. Comparison of classical and ultrasound-assisted extractions of steroids and triterpenoids from three *Chresta* spp. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.11, p. 415-421, 2004.

SIQUEIRA, J.C. Importância alimentícia e medicinal das Amaranthaceae do Brasil. **Acta Biológica Leopoldence**, v.9, p.5-22, 1987.

SIMÕES, C.M.O.; GUERRA, M.P...[et al.]. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ª ed. rev. ampl., primeira reimpressão – Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC, 2004. 1102p.

THOMA, M.; VINATORU, M.; PANIWNKY, L.; MASON, T.J. Investigation of the effects of