

## PARÂMETROS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DE *FUCUS VESICULOSUS* L., FUCACEAE

Klézia Morais Silva Belletti\*  
Márcia do Rocio Duarte\*\*  
Cid Aimbiré de Moraes Santos\*\*\*

O propósito deste trabalho é estabelecer parâmetros para o controle de qualidade de *Fucus vesiculosus* L. Os resultados das análises de onze amostras da droga para cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido e doseamento de iodo, como também seu perfil cromatográfico, são sugeridos como novos parâmetros para a droga.

**Unitermos:** *Fucus vesiculosus*, Fucaceae, controle de qualidade, parâmetros, iodo

### 1. INTRODUÇÃO

*Fucus vesiculosus* L., Fucaceae é uma alga marinha que vive fixada às rochas nas costas do Atlântico Norte. Contém mucilagem constituída por fucoidina e laminarina (ésteres polissacarídeos sulfatados), e algina (ácido poli-D-manurônico), característica desse grupo de algas pardas. Acumula o iodo da água do mar, fixando-o nos talos na forma de iodeto de sódio ou potássio (Figura 1).<sup>1</sup>

\* Laboratório de Controle de Qualidade, Depto. de Farmácia, Universidade Federal do Paraná e aluna do Curso de Mestrado em Botânica, Setor de Ciências Biológicas, UFPR.

\*\* Laboratório de Farmacognosia, Depto. de Farmácia, UFPR.

\*\*\* Autor para correspondência: Laboratório de Farmacognosia, Depto. de Farmácia, UFPR, Rua Prof. Lothario Meissner, 3400, Jardim Botânico, 80210-170, Curitiba, Paraná (cid@subsede.ufpr.br).

Devido à presença de iodo, geralmente nas concentrações de 0,003% até 0,5% do peso das algas secas<sup>2</sup> e de suas mucilagens, essa alga tem sido empregada na terapêutica natural em tratamentos de obesidade, hipotireoidismo e doenças reumáticas.<sup>1,3</sup>

O controle de qualidade dessa alga apresenta dificuldades por não haver, nos compêndios oficiais, análises e parâmetros que permitam aprovar ou rejeitar diferentes amostras. A British Herbal Pharmacopoeia,<sup>4</sup> é a única a constar testes aplicados para *F. vesiculosus*, nada mencionando sobre o doseamento do iodo.

O objetivo deste trabalho é sugerir análises a serem executadas no controle de qualidade de *F. vesiculosus*, recomendando respectivos valores limites.

50

REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA



Figura 1

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi analisado um total de onze amostras de procedências diversas, comercializadas no país e no exterior (China), estando todas pulverizadas, com exceção da amostra 5, que se encontrava fragmentada. As análises escolhidas foram: descrição microscópica, cinzas totais, cinzas insolúveis em ácidos e doseamento do iodo.

### 2.1. Análise microscópica

Do padrão de *F. vesiculosus* foram feitos cortes histológicos de diversas regiões do talo, suas extremidades e vesículas, diafanizados com cloral hidratado e tratados com solução de azul de metileno. As amostras pulverizadas foram também tratadas com os mesmos histo-reagentes e com glicerina iodada na identificação de amido. Padrão e amostras foram observadas em microscópio óptico.

### 2.2. Cinzas totais e insolúveis em ácido

As cinzas totais foram determinadas de acordo com a metodologia para o controle de qualidade de drogas vegetais da Organização Mundial de Saúde (OMS).<sup>5</sup>

### 2.3. Identificação do iodo

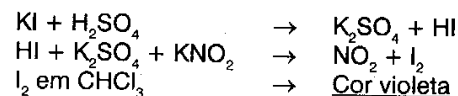
Primeiramente a droga foi incinerada conforme especificado pela metodologia da OMS.<sup>5</sup> Em seguida as cinzas foram tratadas com água quente (100ml) e filtradas em papel de filtro. Com o filtrado (5ml) foi realizado o teste para identificação do iodeto conforme estabelece a Farmacopéia Brasileira III.<sup>6</sup>

### 2.4. Doseamento do iodo

O iodo foi doseado em espectrofotômetro Shimadzu UV-1601. Amostras de *F. vesiculosus* foram primeiramente transformadas em cinzas,<sup>5</sup> partindo de cerca de 4g de alga seca, exatamente pesado. Essas cinzas foram tratadas com água destilada quente (100ml), seguida de filtração em papel de filtro. Em um tubo de ensaio colocou-se 5ml do filtrado, adicionou-se solução de ácido sulfúrico SR (0,5ml) e de nitrito de potássio SR (0,5ml). À solução, que tomou coloração castanha devido à liberação de NO<sub>2</sub>, foi

adicionado clorofórmio R (10ml) para extração do iodo. Com a camada clorofórmica, que adquire tom róseo, foi feita leitura espectrofotométrica 512nm. Esse mesmo procedimento foi feito para ensaio em branco.

As reações que acontecem nesse procedimento estão descritas abaixo:



A concentração de iodeto foi calculada a partir da curva padrão de iodeto de potássio. A curva padrão da absorbância do iodeto de potássio, pela sua concentração, foi elaborada pelos resultados obtidos em soluções de iodeto de potássio PA, nas concentrações de 0,5% até 0,001%. Procurou-se trabalhar próximo aos valores registrados na literatura para o iodeto no *F. vesiculosus*. As soluções de iodeto foram tratadas conforme a Farm. Bras. III para a identificação do iodeto.

### 2.4. Cromatografia em camada delgada

Foi preparada uma extração metanólica no tubo Ependorff de cada amostra e do padrão de *F. vesiculosus*. A fase estacionária usada foi em placas de sílica gel Merck, preparadas com Kieselgel 60 (F<sub>254</sub>), de 7cm de comprimento e 2cm de largura, transferidas para cubetas de vidro previamente saturadas com fases móveis de diferentes polaridades. Os solventes foram purificados e secos antes de serem utilizados. Os cromatogramas foram observados sob luz ultravioleta (ondas longas e curtas), revelados com solução de ácido fosfomolibdico 10%<sup>7</sup> e aquecidos posteriormente em estufa a 100°C por 10 minutos.

### 2.5. Análise estatística

Os resultados referentes aos ensaios realizados foram expressos em valores médios. O teste de hipótese foi feito com a aplicação do teste *t* de Student, com significância de 95% de probabilidade ( $p = 0,05$ ).<sup>8</sup>

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Análise microscópica de *Fucus vesiculosus* L.

**Talo:** Em corte transversal, observa-se epiderme constituída por células poligonais com parede espessa e conteúdo interno castanho a marrom escuro. Nas camadas subepidérmicas encontram-se quatro a cinco estratos de células alongadas, lembrando um pseudoparênquima paliádico. Essas células possuem paredes espessas e conteúdo interno castanho. Na região central, observam-se células com contorno irregular, cuja parede é mucilagínosa, e o citoplasma é claro. (Figuras 2 e 3).

**Vesícula:** A vesícula se assemelha ao talo, apresentando uma região central cheia de ar, ocupada por células com projeções ramificadas, que formam um emaranhado (Figura 4).

**Pó:** A cor do pó varia do marrom ao verde-oliva, tornando-se, quando tratado com cloral hidratado, vermelho acastanhado. Apresenta estruturas que se identificam como sendo da epiderme, do pseudoparênquima (subepiderme) e da região central, ocorrendo também os emaranhados de filamentos do interior da vesícula.

Os testes histoquímicos para mucilagem e para verificação da adição de amido, bem como a observação da presença de areia, fungos e ácaros estão expressos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Presença de de amido, mucilagens, areia, fungos e ácaros em amostras de *F. vesiculosus* L.

|            | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 | A10 | A11 |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|
| Amido      | +  | +  | -  | -  |    | -  | -  | -  | -  | -   | -   |
| Areia      | +  | +  | +  | +  |    | +  | +  | +  | +  | +   | +   |
| Ácaros     | -  | -  | +  | -  |    | +  | -  | -  | -  | -   | -   |
| Fungos     | -  | +  | +  | -  |    | +  | +  | -  | +  | -   | -   |
| Mucilagens | +  | +  | +  | +  |    | +  | +  | +  | +  | +   | +   |

#### 3.2. Cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido e doseamento de iodo

Os resultados encontrados nas onze amostras analisadas estão sumarizados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Determinação do teor de cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido e doseamento de iodo em amostras de *Fucus vesiculosus* L.

| Amostra | Cinzas totais (g%)<br>em ácido (g%) | Cinzas insol.<br>de iodo (g%) | Doseamento |
|---------|-------------------------------------|-------------------------------|------------|
| 1       | 20,0102                             | 2,0749                        | 1,1542     |
| 2       | 39,3619                             | 18,3457                       | 0,7569     |
| 3       | 36,5425                             | 6,9500                        | 0,7492     |
| 4       | 22,0885                             | 2,5220                        | 0,0476     |
| 5       | 22,6416                             | 3,7535                        | 0,2857     |
| 6       | 19,9733                             | 0,5069                        | 0,3896     |
| 7       | 19,8276                             | 2,9414                        | 0,0595     |
| 8       | 21,6680                             | 1,4292                        | 0,2106     |
| 9       | 24,5653                             | 1,4630                        | 0,0607     |
| 10      | 19,1831                             | 0,2944                        | 1,2678     |
| 11      | 35,8625                             | 4,8089                        | 0,2663     |
| Média   | 25,6133                             | 4,0991                        | 0,5258     |

#### 3.3. Perfil cromatográfico:

A fase móvel que apresentou melhor separação foi tolueno/acetato de etila/ácido fórmico (50:40:10).

### 4. DISCUSSÃO

As amostras de *Fucus vesiculosus* L., após identificação por análise microscópica, foram submetidas aos testes descritos acima visando a determinação de parâmetros que pudessem auxiliar no controle de qualidade da droga.

A determinação de cinzas totais é um teste importante na avaliação dos componentes inorgânicos intrínsecos e de origem externa como exemplo: areia, pedra, gesso, terra etc., provenientes de drogas



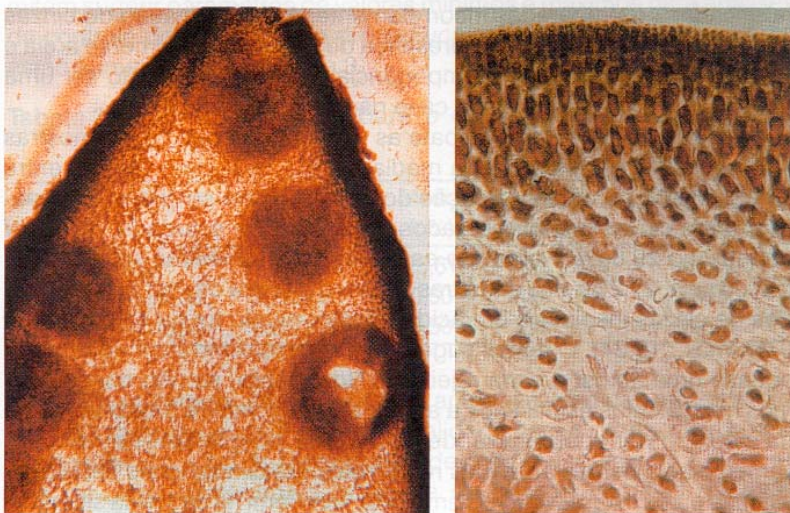


Figura 2

Figura 3

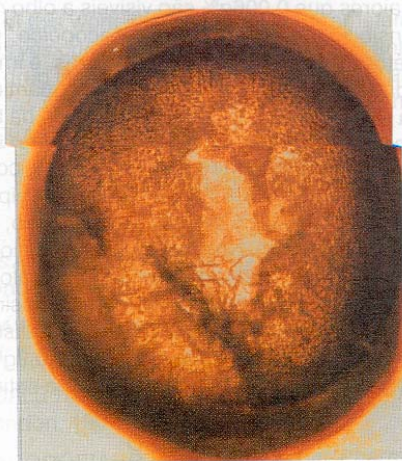


Figura 4

falsificadas ou preparadas incorretamente. A determinação de cinzas insolúveis em ácido mostra a presença de sílica, especialmente areia e terra silicosa e é de grande importância para o *Fucus*, visto ser uma alga marinha e carregar areia, caso não seja bem preparada.

Os dados encontrados para as cinzas totais nas onze amostras analisadas apresentaram uma média de 25,61g%, com valores entre 19,18 e 39,36g%. Após aplicação do teste *t* sugere-se que o valor máximo para cinzas, conforme dados da população estudada, deva ser no máximo 29,8g%. Aplicando esse valor, três amostras seriam rejeitadas, ou seja, 27,27% das amostras analisadas. Para os dados encontrados de cinzas insolúveis em ácido, o valor médio foi de 4,1g% (mín.: 0,29; máx.: 18,34). O teste *t* sugere um valor máximo de 6,9g%, onde apenas uma amostra seria rejeitada. No entanto, se não considerarmos nos cálculos estatísticos a amostra 2, cujo valor é bastante acima da média, o valor passa a ser de no máximo 3,86g%. Nesse caso, novamente as mesmas amostras rejeitadas para cinzas totais seriam rejeitadas para cinzas insolúveis em ácido. Também, na segunda situação, os resultados estão de acordo com o limite de até 4g% determinado pela British Herbal Pharmacopoeia.<sup>4</sup>

No doseamento do iodo, concentrações de iodeto na camada clorofórmica maiores que 0,006g% são visíveis a olho nú, determinando assim a sensibilidade do método farmacopéico. Como a leitura espectrofotométrica obtida é em relação a cinzas, é importante considerar a quantidade da droga a ser pesada e a quantidade de cinzas produzida para o cálculo da concentração do iodo na alga seca.

Os valores encontrados para o doseamento de iodo nas amostras de *F. vesiculosus* L. foram entre 0,047 a 1,27g%, com uma média de 0,53g%. Aplicando-se o teste *t* para cálculo de hipótese, o valor limite seria de no mínimo 0,3g% de iodo. Nesse caso, cerca de 50% das amostras seriam rejeitadas. No entanto, valores de iodo registrados na literatura, entre 0,003 e 0,5g%, revelam um intervalo muito grande para se definir a qualidade de uma amostra. Sendo assim, levando em consideração o valor mínimo obtido pela análise estatística e os resultados obtidos, sugere-se um limite de no mínimo 0,2g% de iodo em *Fucus vesiculosus* L., para considerar uma amostra satisfatória.

## 5. CONCLUSÃO

Em função das amostras estudadas terem sido previamente identificadas e preparadas para as análises, os resultados obtidos per-

mitem sugerir parâmetros de valores mínimos e máximos para análises de controle de qualidade da droga *Fucus vesiculosus* L. Esses valores estão sumarizados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Valores sugeridos para o controle da qualidade de *F. vesiculosus* L.

| Análise             | Min. /Máx.<br>(g%) | Média<br>(g%) | Valor do<br>teste t (g%) | Valor sugerido<br>(g%) |
|---------------------|--------------------|---------------|--------------------------|------------------------|
| Cinzas totais       | 19,18/39,36        | 25,61         | Máx. 29,8                | Máx. 30                |
| Cinzas insol. ácido | 0,29/6,95          | 0,50          | Máx. 3,86                | Máx.                   |
| Doseamento Iodo     | 0,05/1,27          | 0,53          | Mín. 0,3                 | Mín. 0,2               |

Esses valores, se aplicados em amostras vendidas no comércio, deverão indicar um novo perfil de qualidade para a droga. Um programa para elaboração de monografias de drogas vegetais ou e elaboração de uma Farmacopéia Brasileira de Drogas Vegetais deve ser incentivado.

## 6. ABSTRACTS

The aim of this work was to establish parameters for the quality control of *Fucus vesiculosus* L. The results from the analyses of eleven samples of the drug for total ash, ash insoluble in acid and evaluation of iodine content, as well as its profile in thin layer chromatography, are suggested as new parameters for the drug.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NEWALL, C.A. ; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. *Herbal Medicines A guide for Health-care Professionals*; The Pharmaceutical Press: London, 1996.
2. COSTA, A.F. *Farmacognosia*; 3ed.; Calouste Gubenkian: Lisboa, 1987; Vol. II.
3. MARTINDALE *The Extra Pharmacopoeia*; 28ed.; The Pharmaceutical Press: London, 1982.
4. PHARMACOPOEIA, B.H. *British Herbal Pharmacopoeia*; 2ed.; Bournemouth: London, 1983.

5. WORLD HEALTH ORGANIZATION, (WHO/PHARM, 92. 559/rev. 1): Geneva, 1992.
6. *FARMACOPÉIA BRASILEIRA*; 3ed.; Andrei: São Paulo, 1977; Vol. III.
7. WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant Analysis Thin Layer Chromatography Atlas*; 2ed.; Springer: Berlin, 1996.
8. PO, A.L.W. *Statistics for Pharmacists*; Blackwell Science: London, 1998.