

## DIFERENCIAÇÃO HISTOLÓGICA E COMPOSIÇÃO DE CINZAS TOTAS E INSOLÚVEIS DAS VARIEDADES DE ARRABIDAEA CHICA VERLOT

Santana, Luana Kelly Lima<sup>1</sup>; Santana, Genilson Pereira<sup>2</sup>;  
Freitas, Josias Coriolano de<sup>3</sup>; Costa, Paulo Roberto Castro da<sup>2</sup>.

### RESUMO

Amostras de três variedades da Arrabidaea chica Verlot (crajiru) foram coletadas para a realização de análise histológica, ensaios de cinzas totais e insolúveis, determinação da quantidade de Cr, Zn, Fe, Cu, Co e Mn e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). Os resultados da histologia revelaram que as três variedades têm os mesmos elementos histológicos. Os valores de cinzas foram diferentes entre as três variedades, com maior percentual de cinzas totais na variedade de menor massa foliar, comportamento observado também para cinzas insolúveis. A FT-IR e a quantidade de metais mostraram diferenças entre as três variedades.

Palavras-chave: histologia, cinzas, FT-IR, metais.

### ABSTRACT

Samples of three varieties of Arrabidaea chica Verlot (crajiru) were collected to perform a histological analysis, total, and insoluble ash assay, determining of the Cr, Zn, Fe, Cu, Co, and Mn amount and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). The results of histology revealed that the three varieties have the same histological elements. The ash values were different for three varieties, with the highest percentage of total ash for the variety with minor leaf mass, behavior observed to insoluble ash, too. The FT-IR and the amount of metals showed differences between the three varieties.

Keywords: histology, ashes, FT-IR, metals.

1 Universidade Paulista (UNIP) (luana.lima.santana@gmail.com)

2 Universidade Federal do Amazonas (UFAM)\* (gsantana@ufam.edu.br) e (prccosta@ufam.edu.br)

3 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM) (josiasfreitas@ifam.edu.br)

## INTRODUÇÃO

Planta de nome popular *crajiru*, *carajirú*, *carajurú*, *cipó-pau*, *cipó-cruz*, *guajurú*, *guajurú-piranga*, *parirí* (Brasil: Amazonas); *chica*, *piranga*, *bija*, *caballito* (Colômbia); *curi*, *curi-huasca*, *udio* (Colômbia: Siona, Ingano, Huitoto); *nea-curí*, *ma-kuri*, *koo-ri* (Equador: Siona); *taii* (Equador: Ashuar-Jívaro); *puca panga*, *barqui* (Peru); *barqui* (Venezuela), a *A. chica*, planta medicinal muito comum na região Amazônica, é largamente usada como agente adstringente e anti-inflamatório, na preparação de remédios para cólicas intestinais, diarreias sanguinolentas, leucorreia, anemia e leucemia (COSTA e LIMA, 1989). Existem relatos de suas propriedades terapêuticas para enfermidades da pele (impingem, feridas, úlceras), como cicatrizante, no tratamento de corrimento vaginal, na cura de câncer de boca e de útero (TERAN, 1997).

De suas folhas secas pode ser obtida uma tinta de cor vermelha e insolúvel na água, porém solúvel no álcool e no óleo. Antes de entrarem no mato, os índios da Amazônia misturavam essa tinta com o óleo de andiroba para pintarem o corpo e o rosto. Acredita-se que fosse para afugentar os insetos do seu corpo. Essa tinta e as folhas da planta são usadas como remédio contra as disenterias e no tratamento das impingem, além de ser considerado afrodisíaco (RODRIGUES, 1989).

As folhas fornecem matéria corante vermelho-escuro ou vermelho-tijolo (vermelho *carajurú*, vermelho de *chica*, vermelhão americano), isômero do ácido anísico, insolúvel na água e solúvel no álcool e óleo, usada pelos aborígenes para pintura de corpo, utensílios e vestuário, assim como para tatuagem (PIO CORRÊA, 1984).

A literatura cita que existem três variedades de *A. Chica*, fato que pode gerar problemas para sua obtenção como fitoterápico. Sendo assim, neste estudo foram avaliados os seguintes parâmetros: histologia, teor de cinzas, quantidade de metais e FT-IR, na tentativa de diferenciar os três ecotipos. Dessa forma, diminuir o risco de identificação errônea da espécie.

## MATERIAIS E MÉTODO

Os três ecotipos (AC1, AC2 e AC3) foram definidos por Pio-Corrêa (1984) como as variedades *acutifolia* (*A. acutifolia* DC., *A. rósea* DC., *Temnocydia Carajurú* M., *Vasconcellia acutifolia* M.), de folhas maiores (até 15cm de comprimento), com reticulado purpúreo e corolla menor (até 2cm); *angustifolia*, de porte menor, folhas lanceoladas e menores (até 5cm de comprimento); *cuprea* (*B. cuprea* Cham.), de folhas menores, estreitas, curto-obtusos-acuminadas, com reticulado cor de cobre na página inferior; e *thysoidea* (*B. chica* HBK., *B. thysoidea* DC.), de folhas maiores, agudíssimas, até 10cm de comprimento e 6cm de largura, panícula maior e corolla de 3cm macroscopicamente, cada ecotipo apresenta os seguintes aspectos:

**AC1** - de folhas compostas, pecioladas (4-6cm), opostas, com dois a três folíolos peciolulados, de limbo lanceolado ou oval-lanceolado, de 2 cm de largura e 8-9 cm de comprimento. Foram também observados folíolos menores com 1 cm de largura e menos 5 cm de comprimento. A base é arredondada e simétrica, o ápice acuminado e a margem inteira. Nervação penado-reticulada pouco aparente, com uma nervura principal mediana da qual partem as secundárias em ângulo agudo, que próximo às margens se une umas às outras formando arcos. Coloração esverdeada.

**AC2** - de folhas compostas, às vezes longamente pecioladas (4-9 cm), opostas, com dois a três folíolos peciolulados, de limbo oval-oblongo, de 3-5 cm de largura e 9-15 cm de comprimento, base é arredondada, simétrica ou não, ápice acuminado e margem inteira. Nervação semelhante à anterior.

A espécie *A. chica* possui a seguinte classificação taxionômica (INBIO, 2005 e CRONQUIST, 1981):

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Asteridae
Ordem	Scrophulariales
Família	Bignoniaceae
Gênero	Arrabidaea
Espécie	<i>A. chica</i> (Humb. & Bonpl.) Verlot.

**AC3** - de folhas compostas, às vezes longamente pecioladas (4-11 cm), opostas, com dois a três folíolos peciolulados, de limbo oval-acuminado, de 4-6 cm de largura e 10-14 cm de comprimento, base obtusa e simétrica, ápice acuminado e margem inteira. Nervação semelhante às demais.

#### Coleta das Amostras

As variedades da mesma espécie foram identificadas e suas exsicatas estão depositadas no Herbário do INPA com o número de registro 214794. Ressalta-se ainda a existência de uma exsicata referente ao tipo AC2 depositada no New York Garden. Dentre as exsicatas a única que apresentava frutos era a exsicata pertencente à AC3, sendo procedente do Estado do Pará.

As exsicatas do tipo I e II foram coletadas em Manaus, enquanto que a do tipo III na Cidade de Oriximiná (Pará). A do Tipo I foi coletada na área do Projeto LBA (The Large Scale Biosphere-Atmosphere Experiment in Amazônia - Experimento de Grande Escala da Biosfera-Atmosfera na Amazônia), enquanto que a primeira do tipo II na EMBRAPA - Ocidental, e a depositada no New York Garden no Parque São Gabriel da Cachoeira do Rio Negro.

As amostras dos três ecotipos foram secadas ao ar livre na temperatura ambiente e à sombra. Ao adquirirem aspectos secos, quebradiços e coloração vermelha escura, as folhas foram acondicionadas em embalagem de papel madeira e depositadas em sacolas para o estudo.

#### Análises histológicas, cinzas e composição inorgânica

Folhas dos três ecotipos foram coletadas e secadas ao ar livre em temperatura ambiente, aproximadamente 35°C, à sombra até que adquiriram aspectos secos, quebradiços e coloração vermelha escura. As folhas secas foram trituradas em moinho de faca de material em aço inox, até obtenção de um pó finamente dividido, de finalidade também histológica. Nas amostras de cada variedade foram feitos cortes transversais à altura da nervura central, bem como do pó, previamente desidratado e clareado com hidrato de cloral a 60% através da técnica de corte histológico à mão livre.

As cinzas totais e insolúveis em ácido foram determinadas conforme recomendado pela FARMACOPEIA BRASILEIRA (2004).

Os espectros FT-IR das pastilhas contendo cerca de 1,0 mg de pó das três variedades foram secas a 60°C durante 24 horas. Foram obtidos entre 4000 a 400 cm<sup>-1</sup> em um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Spectrum 2000,

sendo efetuadas 10 varreduras com resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$ .

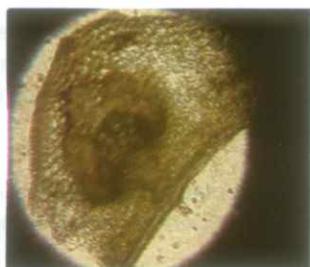
Cerca de 0,50 g do pó foram digeridas com a mistura de ácido concentrado  $\text{HNO}_3$  e  $\text{HClO}_4$  (4:1) em microdigerstor a  $200\text{ }^\circ\text{C}$  por duas horas ou até completo clareamento do extrato, e as concentrações de Cr, Zn, Fe, Cu, Co e Mn, medidas por FAAS em espectrômetro de absorção atômica (GBC, modelo AAS 932 PLUS), pelo método direto e chama de ar/acetileno (MALAVOLTA, 1997).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

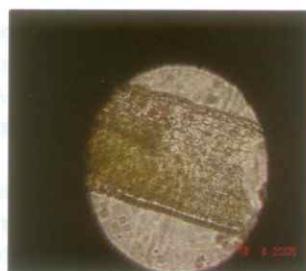
### Corte Histológico das Folhas das três variedades de *A. chica*

Todos os cortes transversais, de nervura central, realizados nas três variedades foram analisados de acordo com a presença de elementos microscópicos:

**T1 ou AC1** foram observados no corte transversal de nervura central a presença de parênquima fundamental seguido de feixe contínuo de fibras esclerenquimáticas e feixe vascular semicircular fechado com o floema disposto na lateral, enquanto o xilema encontrava-se inferior a este e também a presença de colênquima, localizado próximo ao feixe vascular. Foi identificada a presença de mesófilo heterogêneo assimétrico, constituído de duas camadas de parênquima paliçádico e parênquima lacunoso denso, células epidérmicas superiores e inferiores, apresentando estômatos na camada inferior, com presença de cutícula levemente estriada. Destaca-se a grande extensão contendo cloroplastos, identificados por pontos escuros dispostos irregularmente por todo o mesófilo (Figura 1).



(a)



(b)

Figura 1. (a) Detalhe da nervura central evidenciando o feixe vascular semicircular e feixe de fibras esclerenquimáticas. (b) Detalhe do mesófilo heterogêneo assimétrico com duas camadas de paliçádico e parênquima lacunoso.

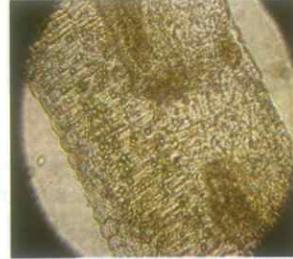
**T2 ou AC2** foi observada a presença de feixes vasculares semicircular e disposições de floema lateralmente com xilema proeminente em direção as partes abaxiais, abaixo do floema, além de bainha esclerenquimática, localizada na extremidade do parênquima fundamental. Observou-se ainda a presença de mesófilo heterogêneo assimétrico com presença de parênquima paliçádico em duas camadas e parênquima lacunoso denso, evidenciando feixe vascular em posição longitudinal. É possível observar ainda células epidérmicas superiores e inferiores, hipoderme e cutícula levemente estriada. Destaca-se a grande extensão contendo cloroplastos, identificados por pontos escuros dispostos irregularmente por todo o mesófilo. (Figura 2).

**T3 ou AC3** foi observada a presença de feixes vasculares em semicírculo, constituído de células esclerenquimáticas, próximas da região do parênquima fundamental, floema disposto lateralmente com xilema proeminente em direção

abaxial em relação ao floema. Nota-se a presença de células epidérmicas e cutícula sinuosa e levemente estriada na área contendo o parênquima fundamental. O mesófilo encontrado era heterogêneo assimétrico composto por duas camadas de parênquima paliçádico e parênquima lacunoso extremamente denso e contendo feixes vasculares em cortes longitudinais. Destaca-se a grande extensão contendo cloroplastos, identificados por pontos escuros dispostos irregularmente por todo o mesófilo (Figura 3).



(a)

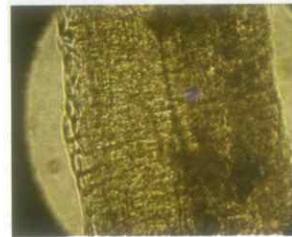


(b)

Figura 2. (a) Detalhe da nervura central evidenciando no semicírculo do feixe vascular a presença de floema e xilema proeminente em direção as partes abaxiais. (b) Detalhe do mesófilo heterogêneo assimétrico constituído de duas camadas de paliçádico e parênquima lacunoso, além de feixe vascular em corte longitudinal.



(a)



(b)

Figura 3. (a) Detalhe da nervura central evidenciando o feixe vascular em semicírculo com xilema proeminente à região abaxial em relação ao floema. (b) Mesófilo heterogêneo assimétrico composto por duas camadas de parênquima paliçádico e parênquima lacunoso extremamente denso com presença de cortes longitudinais de feixe vascular.

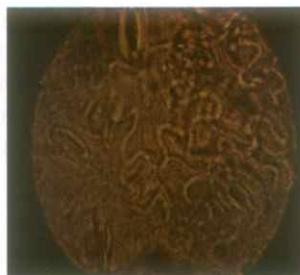
### Montagem das Lâminas do pó de *A. chica*

Primeiramente, descreveu-se o aspecto do pó das três variedades de *A. chica*. Durante a leitura das lâminas montadas de pó ou material triturado de *A. chica*, obteve-se corte do tipo paradérmico e transversal, pois se encontraram elementos facilmente visualizados, como células epidérmicas superiores e inferiores, detalhe de estômatos, presença de mesófilo e tricomas tectores, além de bases de pêlo. Descrevem-se a seguir os elementos encontrados nas três variedades:

**T1 ou AC1** foi observada a presença de fibras, células epidérmicas inferiores do tipo sinuoso e de parede espessada, contendo estômatos paracíticos e, ocasionalmente, anisocíticos, encontrados exclusivamente na face abaxial. Essa característica demonstra a existência de folhas hipoestomática, inseridas no mesmo nível das células epidérmicas (Figura 4). Destaca-se a presença de células epidérmicas superiores retangulares de parede espessada com evidências de nervura central e ramificações, e de base de pêlo em forma de roseta contendo oito células visíveis (Figura 5).

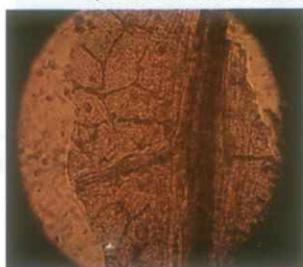


(a)



(b)

Figura 4. (a) Detalhe da epiderme superior com células retangulares de parede espessada. (b) Presença de estômatos paracíticos e, ocasionalmente anisocíticos com células da epiderme inferior do tipo sinuosa.



(a)

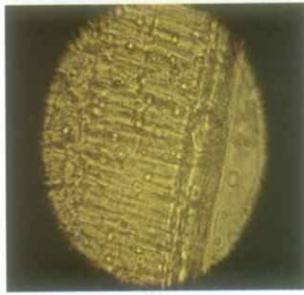


(b)

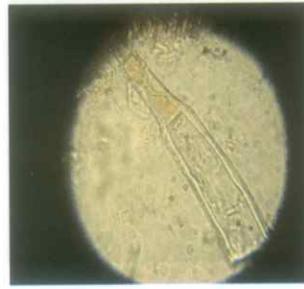
Figura 5. (a) Detalhe da epiderme superior com presença de nervura central e ramificações. (b) Base de pêlo em forma de roseta contendo oito células ou divisórias visíveis.

A secção transversal do pó da variedade AC1 apresenta mesófilo heterogêneo assimétrico, constituído de duas camadas de parênquima paliçádico, com grande distribuição de cloroplastos e parênquima lacunoso denso, células da epiderme superior e cutícula estriada moderadamente grossa e, ainda presença de tricoma (pêlo) tector unisseriado pluricelular recoberto por camada de cutícula (Figura 6).

**T2 ou AC2** foram observadas células de epiderme superior do tipo poligonal de parede espessada contendo grânulos de cloroplastos e, ainda em corte paradérmico do pó o que evidencia a presença de células da epiderme inferior do tipo sinuosas e com estômatos paracíticos (Figura 7). Destaca-se, em corte transversal do pó, a presença de mesófilo heterogêneo assimétrico, constituído de duas camadas de parênquima paliçádico e parênquima lacunoso denso com epiderme superior contendo cutícula. Observa-se ainda gota de óleo, além de terem sido observadas bases de pêlo em forma de roseta, possuindo oito células visíveis (Figura 8).



(a)



(b)

Figura 6. (a) Mesófilo heterogêneo assimétrico constituído de duas camadas de parênquima paliçádico e parênquima lacunoso denso e epiderme superior contendo cutícula. (b) tricoma tector unisseriado pluricelular recoberto por camada de cutícula.



(a)

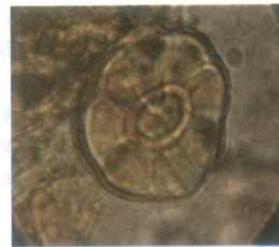


(b)

Figura 7. (a) Detalhe da epiderme superior com células poligonais do tipo espessada. (b) Células epidérmicas inferiores do tipo sinuosas e com presença de estômatos paracíticos.



(a)



(b)

Figura 8. (a) Mesófilo heterogêneo assimétrico apresentando gotícula de óleo e duas camadas de paliçádico e lacunoso denso. (b) Base de pêlo em forma de roseta contendo oito células.

**T3 ou AC3** foram observadas células epidérmicas de contorno poligonal e parede espessada, com base de pêlo em forma de roseta evidenciando suas oito divisões ou células, estômatos paracíticos igualmente às duas outras variedades (Figura 9). Existem também mesófilo heterogêneo assimétrico, constituído de duas camadas de parênquima paliçádico e parênquima lacunoso denso, com distribuição de cloroplastos pelas células em paliçadas. Destaca-se ainda corte de feixes vasculares em longitudinal de forma em espiral (Figura 10).

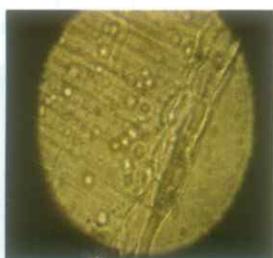


(a)



(b)

Figura 9. (a) Células epidérmicas de contorno poligonal e parede espessada. (b) Base de pêlo em forma de roseta evidenciando suas divisões em oito.



(a)



(b)

Figura 10. (a) Mesófilo heterogêneo assimétrico constituído de duas camadas de parênquima paliçádico e parênquima lacunoso denso com distribuição de cloroplastos nas células em paliçada. (b) Destaque de feixe vascular em corte longitudinal em forma de espiral.

#### Cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido

Os teores de cinzas, entretanto, indicam valores diferentes entre si, pois o maior percentual de cinzas totais foi determinado na variedade de menor massa foliar e, menor percentual na de maior massa foliar (Tabela 1).

Os teores de cinzas totais e insolúveis demonstram que a hipótese dessas amostras serem iguais é nula, pois suas médias são significativamente diferentes entre si. Dessa forma, os teores de cinzas totais e insolúveis é um dos critérios para diferenciar as três variedades de *A. chica*, sendo recomendado como parâmetro de controle de qualidade desta droga vegetal.

Tabela 1. Médias (%) de cinzas totais e insolúveis em ácido encontradas nas três variedades de *A. chica*

Tipo	Cinzas totais	Cinzas insolúveis em ácido
AC1	7.249 ± 0,163	0,459 ± 0,001
AC2	6.079 ± 0,099	0,279 ± 0,023
AC3	5.553 ± 0,108	0,082 ± 0,023

## Estudo de FT-IR

A Figura 11 resume os espectros das três variedades de *A. chica*. De um modo geral, os espectros de infravermelho são caracterizados por bandas de deformação angular do tipo C=O (de 1690 a 1760  $\text{cm}^{-1}$ ) e C-O (de 1050 e 1300  $\text{cm}^{-1}$ ), referente a aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e ésteres e na região de 3200 a 3600  $\text{cm}^{-1}$  referentes a grupamentos de O-H de ácidos carboxílicos e álcoois.

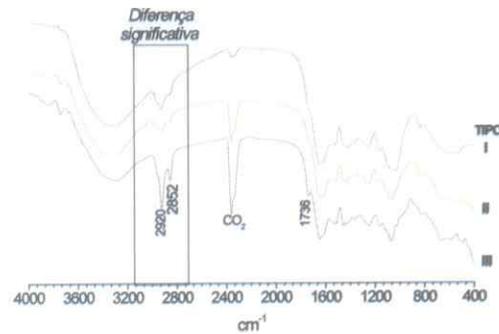


Figura 11. Espectro de infravermelho do pó das três variedades de *A. chica*.

Todos esses grupamentos funcionais estão presentes nas três variedades de *A. chica*. Entretanto, nota-se que não há uma diferença estrutural, nas duas primeiras variedades, enquanto que a terceira varia a intensidade da banda, que compreende o intervalo de 2800  $\text{cm}^{-1}$  e 2950  $\text{cm}^{-1}$ , referente aos modos de vibração de estiramento do grupamento C-H de alcanos, em relação às duas primeiras.

A Figura 12 mostra a quantidade de Cr, Zn, Fe, Cu, Co e Mn nas três variedades e *A. Chica*. Como esperado a concentração é diferenciada para os metais analisados. Apesar da diferenciação a concentração de Cr, Cu, Co e Mn é praticamente a mesma nas três variedades. Por outro lado, a concentração de Zn e Fe é maior na variedade AC1. O Fe também é diferente nas três variedades.

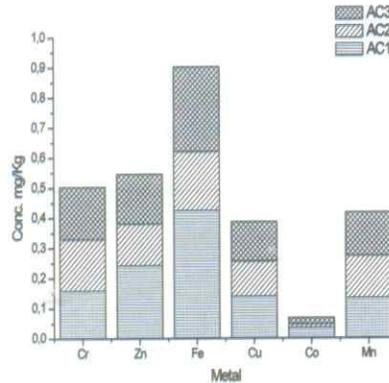


Figura 12. Concentrações de alguns metais encontrada nas três variedades de *A. chica*.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise histológica das três variedades de *A. chica* revelou que não houve variação quanto aos elementos histológicos, sendo caracterizado por apresentar mesmos tecidos estruturais e de sustentação, além de possuir pouca variação quanto aos elementos de suporte ou anexos.

Os teores de cinzas totais e insolúveis demonstraram que a hipótese dessas amostras serem iguais é nula, pois suas médias são significativamente diferentes entre si, apresentando valores de probabilidade muito baixos. A FT-IR e a quantidade de metais também mostraram que existe diferença entre as três espécies. Portanto, os teores de cinzas totais e insolúveis, quantidade de metais e FT-IR são parâmetros que podem servir para o controle de qualidade dessa droga vegetal.

## REFERÊNCIAS

COSTA, P. R. C. da e LIMA, E. A. (1989) **Brazilian-Sino Symposium on Chemistry and Pharmacology of Natural Products**. Rio de Janeiro, Brasil.

**FARMACOPÉIA BRASILEIRA**. Volume I / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 524 p., 1v/il.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificações e fatos**. São Paulo: Produquímica, 1997, 153 p.

OLIVEIRA, K. P.; OLIVEIRA, F.; TOBIAS, M.; MARQUES, L. C. Controle de qualidade de drogas vegetais de farmácias de manipulação de Maringá. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. Vol. 39, supl. 1, 2003.

PIO-CORRÊA, M. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. Ministério da Agricultura. v. II. Brasília: IBDF, 1984. p. 31-32.

RODRIGUES, R. M. **A Flora da Amazônia**. Belém: CEJUP, 1989.

**TERAN, E.** Processos extrativos e estrutura química do princípio ativo. **In: Jornada Paulista de Plantas Medicinais, 3; Encontro Racine Fitoterapia e Fitocosmética, 1., 1997**, Campinas. São Paulo: Racine Qualificação e Acessória S/C Ltda., 1997. p. 1-33.