

EXTRAÇÃO DA PIPERINA A PARTIR DA PIMENTA-DO-REINO: COMPARAÇÃO DE PROCESSOS EXTRATIVOS.

Paulo José Pereira de Lima¹, Denise Talia Silva da Cruz¹, Tatiana Haro Gazani¹, Selma da Gama Paiva¹, Mariana Donato Pereira², Leoní Adriana de Souza², Márcia de Araújo Rebelo²

¹Egressos do Curso de Farmácia do Centro Universitário Max Planck – Indaiatuba/SP.

²Docente do Centro Universitário Max Planck – Indaiatuba/SP.

RESUMO: A piperina é um alcaloide de grande interesse terapêutico, e um dos metabólitos da *Piper nigrum* L. O objetivo deste estudo foi utilizar diferentes processos extrativos para obtenção de piperina purificada. O fruto seco de *Piper nigrum* L. foi transformado em pó padronizado. A extração da piperina foi realizada pela extração por refluxo (Soxhlet), maceração dinâmica e estática. A piperina purificada foi obtida pelo processo de cristalização e recristalização. O rendimento da piperina foi determinado por gravimetria. O aspecto macroscópico foi realizado por avaliação visual. Para avaliação dos aspectos físico-químicos foram realizados ensaios de ponto de fusão, solubilidade e identificação da piperina por Espectrofotometria UV-VIS. O maior rendimento ocorreu para o método via aparato Soxhlet. O ponto de fusão está de acordo como preconizado pela literatura. A avaliação físico-química demonstrou insolubilidade em água e solubilidade em metanol, etanol e clorofórmio. A avaliação espectrofotométrica identificou as piperinas extraídas em 343 nm e 344 nm. A técnica de extração por Soxhlet apresentou maior eficácia em extrair a piperina contida na pimenta-do-reino, quando comparada a métodos mais clássicos, como maceração estática e dinâmica.

Palavras chave: piperina; pimenta-do-reino; processos extrativos

ABSTRACT: Piperine is an alkaloid of great therapeutic interest, and one of *Piper nigrum* L. metabolites. The aim of this study was to use different extractive processes to obtain purified piperine. The dried fruit of *Piper nigrum* L. was transformed into standardized powder. Piperine extraction was performed by reflux extraction (Soxhlet), dynamic and static maceration. The purified piperine was obtained by the crystallization and recrystallization process. Piperine yield was determined by gravimetry. The macroscopic aspect was performed by visual evaluation. To evaluate the physicochemical aspects were performed melting point, solubility and identification of piperine by UV-VIS spectrophotometry. The highest yield occurred for the Soxhlet apparatus method. The melting point is in agreement as recommended by the literature. The physicochemical evaluation showed insolubility in water and solubility in methanol, ethanol and chloroform. The spectrophotometric evaluation identified the piperines extracted at 343 nm and 344 nm. The Soxhlet extraction technique showed greater efficiency in extracting the piperine contained in black pepper when compared to more classical methods, such as static and dynamic maceration.

Keywords: piperine; black pepper; extractive processes

INTRODUÇÃO

A pimenta-do-reino, ou pimenta preta pertence à família Piperaceae, a *Piper nigrum* L. é uma espécie vegetal cultivada em regiões tropicais, como Brasil, Indonésia e Índia. A parte utilizada é majoritariamente seus frutos, que podem possuir coloração diferenciada de acordo com o processo e tempo de colheita, adquirindo características de pimenta verde, branca ou preta. A pimenta preta é conhecida mundialmente, podendo ser utilizada tanto na culinária como na área da saúde (DOMANHOURI, 2015).

O principal componente responsável por seu sabor pungente é a piperina, alcaloide derivado da piperidina, sendo o componente majoritário dessa espécie. A piperina apresenta diversas atividades farmacológicas, entre elas podemos citar a ação anti-hipertensiva, antiagregante plaquetária, antioxidante, antiasmática, antipirética, analgésica, antidiarreica, antiespasmódica, ansiolítica, hepatoprotetora, imunomoduladora, antiapoptótica, espermicida, além da ação contra tumores e metástases. Uma das atividades biológicas mais interessantes apresentadas pela piperina é a sua capacidade de aumentar a biodisponibilidade de alguns medicamentos, vacinas e nutrientes quando em combinação com esses ativos. A maior concentração plasmática apresentada ocorre devido a inibição enzimática do metabolismo hepático (CHOPRA et al., 2016; GORGANI, 2016, TIWARI; KAKASAHEB; MAHADIK, 2020). O extrato da *Piper nigrum* L. também possui ação antimicrobiana, atuando contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *Penicillium sp* (MARTINELLI et al. 2017). Extrações etanólicas de *Piper nigrum* L. demonstraram importante ação anti-inflamatória e analgésica, sendo a sua ação associada ao seu alcaloide predominante piperina, quando testado em camundongos. Atua ainda sobre a interleucina 1 β e apresenta efeitos antirreumáticos (GORGANI, 2016).

Diversos métodos extrativos são utilizados para a obtenção de extratos vegetais, tais como: como infusão, maceração, percolação, decocção, extração contínua (Soxhlet), extração em contra a corrente, extração assistida por microondas, ultrassom, fluido supercrítico e turbólise. No entanto a escolha do método ideal deve ser baseada nos fatores que influenciam a melhor extração e rendimento do componente que apresenta ação responsável pela atividade biológica. Dentre eles está parte do material vegetal que será utilizada, grau de processamento que pode levar a degradação do material de interesse, tamanho da partícula, solvente utilizado, bem como sua concentração, temperatura, tempo de extração e polaridade (OLIVEIRA et al., 2016, TAMBUM; ALEXANDER; GITING, 2020).

A extração por maceração é um dos métodos mais utilizados para se obter compostos de origem vegetal e tem como objetivo a extração do ativo da parte do vegetal pela dissolução das substâncias em solvente extrator (COPPA, 2017, TAMBUM; ALEXANDER; GITING, 2021). A maceração é uma operação física, onde a extração do ativo é realizada em um recipiente fechado, mantido à temperatura ambiente, sem renovação do líquido extrator. O processo pode ser realizado sob agitação ocasional (maceração dinâmica), ou estático (maceração estática). Esse tipo de extração geralmente utiliza o etanol, em diferentes graus, como solvente extrator (FARMACOPEIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA, 2003; ANVISA, 2010).

Na maceração estática a extração do ativo é imersa no líquido extrator durante um período de tempo pré-definido. Após esse período o material vegetal sólido é retirado por filtração e o líquido extrator, contendo o ativo, é armazenado em vidro âmbar. A maceração estática tem a vantagem de ser uma técnica simples e de fácil manuseio, porém apresenta a desvantagem de não extrair totalmente o ativo do material vegetal, devido à exaustão do solvente ou tempo insuficiente para que ocorra a extração (MOREIRA, 2014).

Na maceração dinâmica o processo de extração é bem semelhante ao da maceração estática, no entanto, o material vegetal será mantido sob agitação ocasional. A vantagem da maceração dinâmica comparada a maceração estática é que todo o material vegetal permanecerá por mais tempo em contato com o solvente devido ao processo de agitação (ANVISA, 2010; MOREIRA, 2014). A maceração dinâmica é utilizada para extração de ativos vegetais na indústria de perfume, farmacêutica, na área de alimentos e da nutrição humana. Este método de extração possibilita a obtenção de extratos vegetais, óleos comestíveis ou industriais, oleoresina, pigmentos, e fármacos naturais (POIROT et al., 2006).

O método de extração, através de aquecimento e refluxo conhecido como Soxhlet, é uma técnica tradicional que permanece em uso para a extração de componentes bioativos, como a piperina. Consiste na inserção de amostra seca em papel filtro, este então é inserido no sistema de destilação com o solvente desejado. O solvente é aquecido e o vapor gerado é condensado, este por sua vez goteja sobre a amostra até atingir o ponto máximo, o que leva o extrato a transbordar e descer ao frasco de destilação. Enquanto o soluto permanece na câmara de destilação, o solvente permanece evaporando e gotejando sobre a amostra. Este processo continua até extração se completar. O ponto favorável desse sistema de extração é que é de fácil utilização, no entanto o longo tempo de extração leva a perda de solvente e danos ao meio ambiente (GORGANI, 2016; MATENA; KARIUKI; ONGARORA, 2020).

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi utilizar diferentes processos extrativos para obtenção de extrato vegetal de piperina e realizar sua purificação. A comparação entre diferentes métodos foi feita através do rendimento após recristalização.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

Frutos secos de *Piper nigrum* L. foram adquiridos em comércio local, sob mesmo número de lote (40764) e fornecedor nacional. Álcool etílico absoluto (ACS Científica, Sumaré, Brasil, lote ACS0103-1L). Todos os reagentes utilizados eram de grau de pureza para uso farmacêutico.

MÉTODOS

Obtenção de *Piper nigrum* L. em pó

Os frutos secos de *Piper nigrum* L. foram triturados e padronizados utilizando tamis de malha Mesh 60.

Obtenção dos extratos etanólicos de *Piper nigrum* L padronizado

Neste estudo foram realizados três processos de extração de sólido-líquido: extração por refluxo (Soxhlet), extração por maceração dinâmica e extração por maceração estática.

a) Extração por refluxo (Soxhlet)

sob aquecimento (manta térmica Fisatom, modelo 102), a temperatura de 110°C durante 3 horas.

b) Extração por maceração dinâmica

Para a obtenção do extrato etanólico por maceração dinâmica a massa de 15 g de *Piper nigrum* L padronizado foi dispersa em 200 mL de álcool etílico 99%. A solução etanólica foi mantida sob agitação mecânica (Quimis, modelo Q261-22, Diadema, Brasil) de 400 rpm, durante 12 horas. O macerado foi filtrado após o término da extração.

c) Extração por maceração estática

Para a obtenção do extrato etanólico por maceração dinâmica a massa de 15 g de *Piper nigrum* L padronizado foi dispersa em 200 mL de álcool etílico 99% e acondicionada em frasco âmbar. A solução

etanólica foi mantida ao abrigo da luz e umidade durante sete dias. O macerado foi filtrado após o término do período de extração.

Obtenção da fração etanólica dos extratos de *piper nigrum* L padronizado

Os extratos etanólicos obtidos por diferentes métodos extrativos foram submetidos à evaporação da fração etanólica utilizando rotaevaporador (LGI Scientific, modelo LGI-52CS-1, São Paulo, Brasil). O banho de aquecimento foi mantido a uma temperatura de $92^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. O processo de evaporação foi mantido até que o volume do extrato aquoso fosse de aproximadamente 50 ± 5 mL.

Obtenção da piperina

A extração da piperina foi realizada segundo adaptação do método de Suliman (2016). O volume de 10 mL de solução etanólica de KOH a 10% (v/m) foi vertido, separadamente, nos extratos alcoólicos obtidos em diferentes processos extrativos. As soluções foram mantidas sob agitação mecânica constante, a 400 rpm, durante 1 h. A cristalização da piperina foi realizada adicionando-se o volume de 250 mL de água destilada gelada ($\cong 8^{\circ}\text{C}$) aos extratos alcalinizados. Os extratos alcalinizados foram mantidos sob refrigeração ($8^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 24 h. O resíduo insolúvel foi filtrado à vácuo e solubilizado em álcool etílico absoluto. A solução etanólica foi mantida sob aquecimento (90°C), durante dois minutos, permanecendo em repouso à temperatura ambiente $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ até total resfriamento. Para a obtenção de *Piper nigrum* L recristalizado a solução etanólica foi congelada durante 24 h. Vertendo o recipiente, houve a separação dos cristais obtidos do líquido extrator. As amostras foram secas em temperatura ambiente $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ até massa constante.

Determinação do rendimento de piperina

A determinação do teor de sólidos (%) foi obtida pela relação da massa inicial de *piper nigrum* L padronizado com a massa seca de piperina obtida nos três processos extrativos multiplicada por 100, conforme Equação 1:

$$\text{RE}(\%) = \frac{\text{mPN}}{\text{mPP}} \times 100, \text{ (Equação 1)}$$

Onde, RE (%) = rendimento em percentual de piperina, mPN = massa de *piper nigrum* L padronizado, mPP = massa de piperina.

Caracterização física e físico-química da piperina

a) Características macroscópicas

As características macroscópicas dos cristais foram avaliadas visivelmente em: i) superfície branca e bem iluminada; ii) a olho nu, quanto a sua coloração e forma; iii) conforme método farmacopeico, para identificação complementar da piperina

b) Determinação do ponto de fusão

A parte inferior do capilar de vidro foi vedado em bico de Bunsen, em seguida a piperina foi compactada. Os capilares de vidro foram acondicionados no aparato (Tecnopon, modelo PFMI Digital, Piracicaba, Brasil) e a temperatura relacionada a mudança do estado sólido para líquido foi determinada. Os ensaios foram realizados em triplicata.

c) Determinação da solubilidade

A solubilidade foi avaliada em água destilada, etanol P.A. (99,5 %), metanol P.A. (99,8%) e clorofórmio (99,8) nas proporções de 1:1 (m/v), 1:10 (m/v), 1:30 (m/v); 1:100 (m/v) e 1:1000 (m/v). A temperatura do ambiente foi mantida a 25°C. As amostras foram preparadas em béquer, após a junção da amostra com o solvente, a homogeneização foi feita manualmente três minutos. A avaliação foi realizada pelo aspecto visual de saturação do sólido no líquido.

Kolhe, Borole e Patel, 2011 avaliaram a solubilidade de piperina em éter de petróleo, clorofórmio, etanol, metanol e água. A piperina apresentou-se solúvel em todos os solventes orgânicos testados e insolúvel em água.

d) Espectrofotometria UV-VIS

O preparo das soluções foi feito por meio da diluição de 10 mg dos cristais de piperina em 10 mL de etanol. A alíquota de 500 µL da solução de piperina (1 mg/mL) foi diluída em 10 mL de etanol. Por último, a alíquota de 1 mL da solução de piperina (50 µg /mL) foi diluída em 4 mL solução de etanol (1:1 v/v). Obtendo-se a concentração final de 10 µg/mL. Para identificar o comprimento de onda da piperina, foi realizada varredura em espectrofotômetro UV-Visível (Agilent Technologies, modelo 8453, EUA), na faixa de comprimento de onda de 300 nm a 400 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 é possível observar que a extração da piperina realizada por refluxo (Soxhlet) apresentou maior rendimento (3,03%), quando comparadas ao método de extração por maceração estática (1,63%) e maceração dinâmica (0,34%).

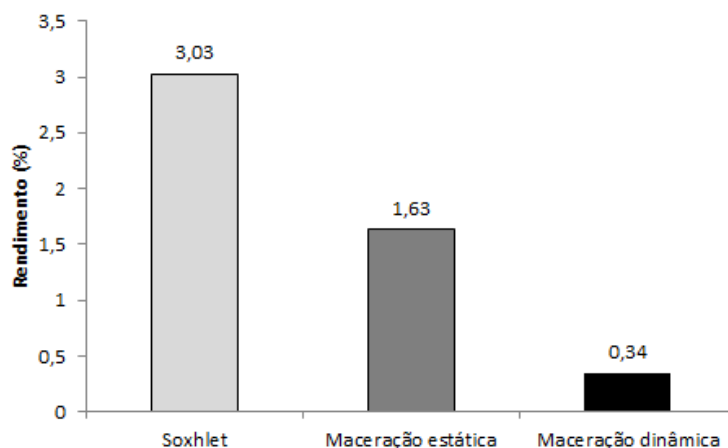


Figura 1 - Comparativo do rendimento (%) obtido de piperina entre os métodos de Soxhlet, maceração estática e maceração dinâmica.

A extração é uma operação físico-química de transferência de massa, onde os sólidos solúveis e voláteis podem ser extraídos por manter-se contato entre o solvente e os sólidos (CLARKE, 1985). A extração realizada pelo processo de refluxo (Soxhlet) foi 892 vezes maior que a extração que realizada por maceração dinâmica de menor rendimento. O rendimento da extração dos compostos da planta é influenciado pelas condições em que o processo de extração é realizado (WONG KITTIPONG et al., 2004). Além disso, a escolha do solvente, a técnica de extração, a temperatura de extração e a ação mecânica (agitação e pressão) apresentam influência sobre o processo (PINELO et al., 2004, CARDOSO et al., 2017).

Cabe ressaltar que a extração realizada por Soxhlet é composta de um sistema que extrai os ativos utilizando refluxo do solvente e temperatura ao contrário do sistema de maceração dinâmica e estática. Tendo em vista que o processo extrativo foi realizado com o mesmo solvente, os resultados sugerem que a temperatura pode ter influenciado no processo de extração

Ao compararmos a extração por maceração dinâmica e por maceração estática, que não utilizaram temperatura no processo extrativo, podemos observar que maceração estática apresentou maior capacidade de extrair a piperina, extraiu cerca de 480 vezes mais que por agitação. Resultado diferente foi obtido por Moreira et al. (2017) ao conseguir extrair maior quantidade de ativo da tintura das folhas de *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz) por maceração dinâmica. Além das condições do processo de extração, a extração é influenciada pela composição diversa do produto natural, isto faz com que cada

sistema material-solvente apresente comportamento peculiar e que não pode ser previsto facilmente (PINELO et al., 2004).

Em um estudo realizado por Kotte, Dubey e Muralli (2012) foi observado que a piperina se degradou em piperanina e piperetina após ser exposta a luz UV. Isso justificaria o melhor resultado obtido no rendimento pelo processo de maceração dinâmica, pois durante a maceração estática o material vegetal fica armazenado ao abrigo da luz (MOREIRA, 2014) enquanto que durante a extração por maceração dinâmica o material vegetal fica em maior contato com o solvente (ANVISA, 2010; MOREIRA, 2014) o que também possibilita estar mais exposto à incidência da luz e possibilidade de degradação do ativo vegetal.

Está demonstrado na Figura 2 o comparativo de extrações por método Soxhlet dos autores Suliman (2016), Khan et al. (2017) e o presente estudo.

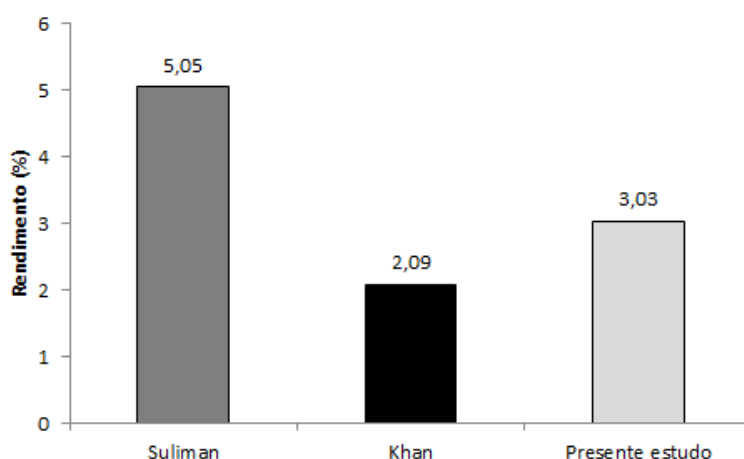


Figura 2 - Comparação do rendimento obtido na extração por Soxhlet obtido neste estudo em relação à Suliman (2016) e Khan (2017).

O rendimento demonstra ser 66,6% inferior ao processo de Suliman (2016). No entanto, a extração realizada neste estudo foi 4,5% maior que a obtida por Khan et al. (2017), o que demonstra que a extração realizada neste estudo obteve resultados adequados.

Observando a diferença nos rendimentos obtidos por diferentes autores, é necessário compreender que diversos fatores podem influenciar no teor de ativos que constituem um vegetal. Foi realizada uma avaliação quantitativa de variação de metabólitos secundários em *Tournefortia paniculata* Cham por Moraes e Sousa (2007), coletando folhas do vegetal a cada dois meses, ao longo de um ano. O estudo indica que a época da coleta e solventes utilizados promoveram variação no teor médio dos

taninos, demonstrando que a produção endógena deste composto pode estar ligada ao estágio de desenvolvimento do vegetal, condições ecológicas ou ambientais.

Após colheita de manjeriço, em quatro horários diferentes (7, 10, 13 e 16 horas), foi analisado o teor de óleo essencial extraído para cada colheita. A partir dos valores obtidos, observou-se que o maior teor ocorreu às 14 horas para Alfavaca Basilicão, às 21 horas para Toscano a Folha de Alface, sendo que, para este, houve incidência de maior temperatura e menor umidade relativa do ar. Esses resultados indicam maior produção de metabólitos secundários (como mecanismo de defesa) frente a uma situação de estresse para este organismo. O índice elevado de teor para as 21 horas pode ocorrer devido ao armazenamento de metabólitos secundários. Portanto, o teor de óleo essencial pode estar diretamente relacionado ao horário da coleta, condições ambientais e fisiologia do vegetal (ALCANTARA, et al. 2018).

O método empregado na extração de componentes vegetais também é uma importante variável relacionada ao teor de um extrato. Em estudo realizado por Murugan e Parimelazhagan (2014), foi comparada a extração de polifenóis por meio de extração via Soxhlet, fracionamento e maceração estática a frio. O método utilizando aparato Soxhlet se mostrou com resultados iguais ou superiores frente aos demais, apresentando a vantagem de um consumo de solvente e tempo de extrações inferiores.

A piperina foi extraída por diferentes processos de extração (Soxhlet, maceração dinâmica e estática) e os resultados obtidos nas análises macroscópicas, ponto de fusão, solubilidade em etanol, metanol, clorofórmio e água estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Aspecto macroscópico, ponto de fusão e solubilidade em diferentes solventes apresentados pelas piperinas extraídas.

	Maceração dinâmica	Maceração estática	Soxhlet
Aspecto Macroscópico	Cristais agulhados de coloração amarelada	Cristais agulhados de coloração amarelada	Cristais agulhados de coloração amarelada
Ponto de fusão	129°C	128.0°C	128.5°C
Solubilidade em etanol	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Solubilidade em metanol	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Solubilidade em clorofórmio	Solúvel	Solúvel	Solúvel

O aspecto macroscópico apresentou grande semelhança para os três processos extrativos, com formação de cristais agulhados de tonalidade amarelada.

A substância em estrutura cristalina, de coloração amarelada foi identificada como piperoilpiperidina. A análise visual contribuiu para sua identificação, na década de 90 (SULIMAN, 2016).

Segundo a Farmacopeia Brasileira (5ª Edição, 1º Suplemento, 2016, p.17):

A Temperatura ou Ponto de fusão de uma substância é definida como a temperatura na qual esta se encontra completamente fundida. É uma propriedade intrínseca das substâncias, que é utilizada, junto a outros ensaios, para a confirmação da identidade das mesmas, assim como indicador de pureza. No caso de substâncias que fundem com decomposição, a temperatura ou ponto de fusão será a temperatura na qual se inicia a fusão.

[...] Para os fins farmacopeicos, o ponto de fusão ou faixa de fusão é informado como a temperatura na qual se observa a primeira fase líquida e a temperatura na qual não há mais fase sólida aparente, exceto para aquelas substâncias que se fundem com decomposição ou se especifique de outra maneira na monografia individual.

Os resultados obtidos variaram entre 128°C e 129°C, os quais se enquadram nos limites de aceitação do padrão analítico (MERCK MILIPORE, 2014). Os valores se assimilam aos relatados por Suliman (2016), Kolhe, Borole e Patel (2011) e Khan (2017), sendo respectivamente 130°C 129°C e 129°C.

O ponto de fusão pode sofrer variação devido a presença de isomeria ótica na molécula de piperina, a qual pode ser convertida em chavicina por via enzimática. (TERNES; KRAUZE, 2002). Com a hidrólise desta substância utilizando KOH em solução alcoólica, pode-se obter piperidina e ácido isochavacínico (MANSKE, 1970). A presença de pequenas quantidades de impurezas, pode alterar o ponto de fusão da substância analisada (STANFORD RESEARCH SYSTEMS, 2004). Deve ser levado em consideração que, diferentes processos extrativos obtiveram quantidades distintas de impureza.

A solubilidade de substância pura em dado solvente, à temperatura constante, é parâmetro característico da substância, podendo, pois, servir para fins de identificação e avaliação de grau de pureza (BRASIL, 2010). Para o teste de solubilidade, o material cristalizado apresentou-se insolúvel em água e solúvel em solventes orgânicos (clorofórmio, metanol e etanol), os mesmos resultados foram obtidos por Kolhe, Borole e Patel (2011).

A presença de anel piperídínico na molécula de piperina confere a esta, alta lipossolubilidade (SCRIVEN; RAMSDEN; KATRITZKY, 2017), o que faz com que esta seja insolúvel em água.

Os resultados da avaliação espectrofotométrica em UV-VIS variaram entre 343 nm para a extração realizada por Soxhlet e maceração estática e 344 nm para maceração dinâmica, conforme descrito na Figura 4.

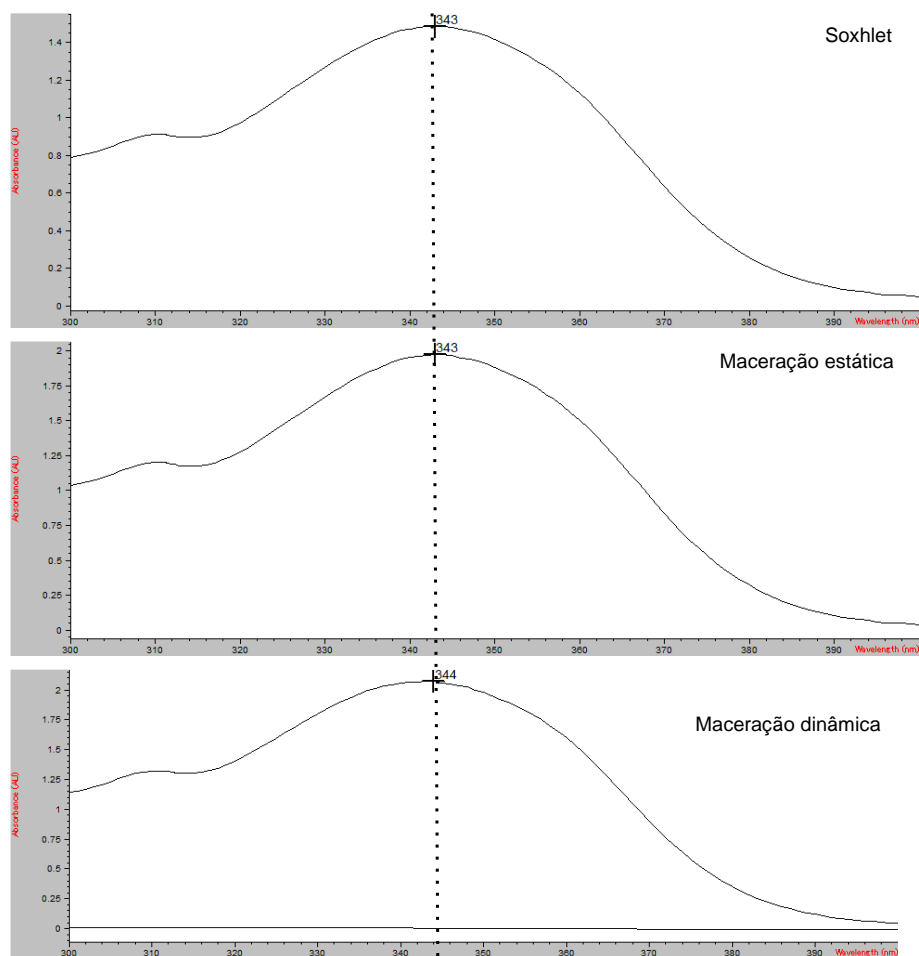


Figura 3 - Comprimento de onda da absorção da piperina extraída por Soxhlet, maceração estática e maceração dinâmica.

A leitura máxima se localizou entre 343 nm e 344 nm, similares aos relatados por Kolhe, Borole e Patel (2011). Conforme a Figura 4, os resultados apresentam baixa variação entre si. A absorção de energia eletromagnética pelas moléculas varia conforme a estrutura e concentração das substâncias, sendo utilizado para a identificação e quantificação de substância (ANVISA, 2010). A absorção máxima se localizou entre 343 nm e 344 nm, resultados semelhantes foram obtidos por Kolhe, Borole e Patel (2011).

CONCLUSÃO

O método de extração por refluxo obteve quase o dobro da quantidade obtida por meio da maceração estática.

Os três processos extrativos foram capazes de extrair o alcaloide da *Piper nigrum* L., a piperina, como demonstrado pelos ensaios de ponto de fusão, solubilidade e espectrofotometria UV-VIS.

A técnica de extração por refluxo, ou, Soxhlet apresentou-se mais eficaz em extrair a piperina contida na pimenta-do-reino, quando comparada a métodos mais clássicos, como maceração estática e dinâmica.

REFERÊNCIAS

ALCANTARA, F. D. O. et al. Teor E Fitoquímica De Óleo Essencial De Manjeriçõ Em Diferentes Horários De Colheita. **Journal of Neotropical Agriculture**, v. 5, n. 4, p. 1–6, 2018.

ANVISA. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.

ANVISA. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira V, 1º Suplemento. 5ª edição. Brasília. 2016.

ANVISA. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Farmacopeia Homeopática Brasileira II. 2ª ed. São Paulo:Atheneu, 2003.

CARDOSO, I. C. et al. Influência da técnica de extração e do tamanho de partícula do material vegetal no teor de compostos fenólicos totais da tintura das folhas de *Alpinia zerumbet*. **Revista Fitos**, Suplemento, p. 1-126, 2017.

CHOPRA, B. et al. Piperine and Its Various Physicochemical and Biological Aspects: A Review. **Open Chemistry Journal**, v. 3, p. 75-96, 2016.

CLARKE, R.J. Green coffee processing. In: CLIFFORD, M.N. & WILSON, K.C., eds. *Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage*. Westport, Connecticut, Avi Publishing, 1985. cap.10, p.230-250.

COPPA, C. F. S. C. Extração de oleuropeína a partir de folhas de oliveira utilizando solvente hidroalcoólico. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, e2016169, 2017.

DAMANHOURI, Zoheir A. A Review on Therapeutic Potential of *Piper nigrum* L. (Black Pepper): The King of Spices. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 03, n. 03, 2015.

GORGANI, L. et al. Piperine — The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation to Medicinal Formulations. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, p. 18, 2016.

KHAN, Z.R. et al. Isolation of Bulk Amount of Piperine as Active Pharmaceutical Ingredient (API) from Black Pepper and White Pepper (*Piper nigrum* L.). **Pharmacology & Pharmacy**, v. 8, p. 253-262, 2017.

KOLHE, Smita R., Borole, P., Patel, U. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**. Extraction and evaluation of piperine from piper nigrum Linn., v. 2, p. 144-149, 2011.

KOTTE, S. C. B.; DUBEY, P.K; MURALI, P.M. Identification and characterization of stressed degradation products of Piperine and profiling with black pepper (*Piper Nigrum* L.) Extraction by using LC/Q-TOF-dual ESI-MS experiments. **The Royal Society of Chemistry**, v. 1, p. 1–8, 2012.

LOPES, Luciana; PEREIRA, Rosemary; MENDES, Antônio. **Variação no teor de cafeína de grãos crus de 15 linhagens de café (*Coffea arabica* L.), colhidas em três épocas durante a colheita**. Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, p. 618–620, 1998. Disponível em: <www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/download/836/699>. Acesso em: 05 out. 2021.

MANSKE, R. (1970). *The alkaloids: Chemistry and Physiology*. 12th ed. New York: Academic Press, pp.170-171.

MARTINELLI, L. et al. Antimicrobial activity and chemical constituents of essential oils and oleoresins extracted from eight pepper species. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 47,n. 5, e20160899, 2017 .

MATENA, H. G.; KARIUKI, N. Z.; ONGARORA, B. G. Optimization of piperine extraction from black pepper (*piper nigrum*) using different solvents for control of bedbugs. *East African Agricultural and Forestry Journal Special Issue*, v. 84, n. 1, p. 147-153, 2020.

MERCK MILLIPORE, **Piperine for synthesis. CAS 94-62-2, molar mass 285.34 g/mol**. Darmstadt, Alemanha, abr. 2014. Disponível em: <http://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Piperine,MDA_CHEM-821036>. Acesso em: 05 out. 2021.

MORAES, L.; SOUSA, O. Avaliações Qualitativas e Quantitativas da Variação de Metabólitos Secundários em *Tournefortia paniculata* Cham (Boraginaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 1032–1034, 2007.

MOREIRA P., et al. **Análise de métodos de extração de alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) por maceração estática e dinâmica**. II Simpósio de Assistência Farmacêutica. Centro Universitário São Camilo, 2014.

MURUGAN, R.; PARIMELAZHAGAN, T. Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn. - An in vitro approach. **Journal of King Saud University - Science**, v. 26, n. 4, p. 267–275, 2014.

OLIVEIRA, V. B. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de dicksonia sellowiana (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Médicas**, v.18, n.1, p.230-239, 2016.

PINELO, M. et al. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). **Food Chemistry**, v. 85, n. 2, p. 267–273, 2004.

PIRES, R. F., et al. Antimicrobial activity and chemical constituents of essential oils and oleoresins extracted from eight pepper species. **Ciência Rural**, v. 47, n. 5, p. 7, 2017.

POIROT, R., et al. Fast Batch to Continuous Solid-Liquid Extraction from Plants in Continuous Industrial Extractor. **Chemical & Engineering Technology**, v.29, n.1, p.46–51, 2006.

SCRIVEN, E., RAMSDEN, C. e KATRITZKY, A. (2017). *Heterocyclic chemistry in the 21st century: a tribute to Alan Katritzky*. ed. 121 San Diego, EUA: Elsevier Science Publishing Co Inc, p.20.

Stanford Research Systems. **Melting point determination**, Califórnia, EUA, 2004. Disponível em <<https://www.thinksrs.com/downloads/PDFs/ApplicationNotes/MPPProcedure.pdf>>. Acesso em: 05 out. 2019

SULIMAN, Maysaa Mohammed. **Identification of essential oil and piperine obtained from black pepper**. 2016. 46 f. Sudan University of Science and Technology College of Graduate Studies, 2016.

TAMBUM, R.; ALEXANDER, V.; GITING, Y. Performance comparison of maceration method, soxhletation method, and microwave-assisted extraction in extracting active compounds from soursop leaves (*Annona muricata*): A review. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, December 2021

TERNES, W., KRAUSE, E. L. Characterization and determination of piperine and piperine isomers in eggs. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, n. 1, p. 155–160, 2002.

TIWARI,A.; LKAKASAHEB, R.; MAHADIK, S. Y. G. Piperine: A comprehensive review of methods of isolation, purification, and biological properties. *Medicine in Drug Discovery*, v. 6, p. 1-21, 2020.

WONG KITTIPONG, R. et al. Solid-liquid extraction of andrographolide from plants - Experimental study, kinetic reaction and model. **Separation and Purification Technology**, v. 40, n. 2, p. 147–154, 2004.