

## Controle de Qualidade de Amostras de *Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke

Tânia Mara ANTONELLI-USHIROBIRA <sup>1</sup>, Elza YAMAGUTI <sup>2</sup>,  
Leila Mariko UHEMURA <sup>2</sup> e João Carlos PALAZZO DE MELLO <sup>\*1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

<sup>2</sup> Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, UEM,  
Av. Colombo, 5790, cep 87020-900 - Maringá-PR-Brasil

---

**RESUMO.** Sementes de guaraná [*Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke], obtidas de lugares diferentes, foram analisadas quanto aos aspectos físico-químicos (perda por dessecação, teor de extrativos, teor de resíduo seco) e quanto ao teor de taninos totais e metilxantinas. A análise cromatográfica por CCD mostrou um valor de  $R_f = 0,43$  para cafeína e 0,72 e 0,71 para catequina e epicatequina, respectivamente. A análise por CLAE apresentou, para uma fração semipurificada, tempos de retenção de catequina, epicatequina e cafeína de 6,17, 8,85 e 11,91 min, respectivamente. Assim, pode-se confirmar a qualidade e semelhança em teores químicos entre as diferentes matérias-primas vegetais.

**SUMMARY.** "Quality Control of Samples of *Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke". Seeds of guaraná [*Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke], obtained from different localities, were tested in regard to physicochemical aspects (loss on drying, determination of extracts, dry residue) and their total tannin and methylxanthine contents. TLC chromatographic analysis showed a  $R_f = 0.43$  for caffeine and  $R_f = 0.72$  and 0.71 for catechin and epicatechin respectively. Analysis of the semi-purified fraction by HPLC showed retention times for catechin, epicatechin and caffeine of 6.17, 8.85 and 11.91 min respectively. The quality and similarity of the chemical components of the raw material from different sources was confirmed.

---

### INTRODUÇÃO

*Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, Sapindaceae, conhecida como guaraná, é uma planta tipicamente brasileira, sendo intensa e principalmente cultivada na região amazônica. É empregada na medicina popular como estimulante das funções cerebrais, porém vários outros usos já foram relatados como: afrodisíaco, antitérmico, analgésico e antidiarréico <sup>1</sup>.

Na indústria farmacêutica é muito utilizada na produção de medicamentos, e a indústria alimentícia utiliza-a principalmente na produção de bebidas refrigerantes.

As sementes de guaraná se caracterizam pelo alto teor de metilxantinas, principalmente cafeína e em menor quantidade teofilina e teobromi-

na, além de altas concentrações de taninos terem sido descritas <sup>2</sup>. As sementes de guaraná apresentam, ainda, um pigmento vermelho natural que confere a coloração ao extrato de guaraná, usado na fabricação do refrigerante <sup>3</sup>.

Um dos problemas atribuídos aos fitoterápicos está relacionado ao controle de qualidade da matéria-prima. As plantas medicinais produzem diferentes substâncias químicas, sendo que algumas são produzidas em maior quantidade do que outras, e podem variar de acordo com as condições climáticas e edáficas. Dessa forma, a qualidade da matéria-prima vegetal pode variar dependendo da sua procedência e período de coleta <sup>4</sup>.

Sob esse aspecto, duas amostras de sementes de guaraná, provenientes de diferentes lugares,

**PALAVRAS CHAVES:** Análises cromatográficas, Análises físico-químicas, Controle de qualidade, *Paullinia cupana*, Sapindaceae

**KEYWORDS:** *Paullinia cupana*, Sapindaceae, Chromatographic analysis, Physicochemical analysis, Quality control.

\* Autor a quem a correspondência deverá ser enviada. E-mail: mello@uem.br

foram analisadas e comparadas quanto aos aspectos físico-químicos e de seus constituintes químicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Matéria-prima vegetal*

As sementes coletadas de setembro a novembro de 2000, torradas e secas em tachos de ferro por 1 h (**AMO1**), foram provenientes do Estado de Mato Grosso, região de Alta Floresta, Sítio Nossa Senhora Aparecida, Rodovia MT 325, km 8. Uma exsicata encontra-se depositada como documento taxonômico no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá sob número HUM 9.065. Sua identificação foi realizada pela Profa. Dra. Cássia Mônica Sakuragui.

As sementes de guaraná torradas e secas em tachos de ferro por 4 h (**AMO2**), foram fornecidas pela Embrapa Ocidental de Manaus, provenientes de Maués, Amazonas (amostra enviada pelo Engenheiro Agrônomo José Firmino Nascimento Filho, EMBRAPA Ocidental, Manaus, AM, Brasil).

### *Análise química preliminar*

As análises químicas preliminares foram realizadas segundo o proposto por Harborne <sup>5</sup>: taninos, compostos antracênicos, glicosídeos aromáticos simples, glicosídeos flavônicos, saponinas e metilxantinas.

### *Análises físico-químicas*

A droga vegetal foi analisada de acordo com: perda por dessecação <sup>6</sup>, teor de extrativos <sup>7</sup>, teor de resíduo seco <sup>7</sup>, teor de taninos totais <sup>8</sup> e teor de metilxantinas <sup>9</sup>.

### *Preparação do extrato*

Extrato bruto das sementes de guaraná (EBPC) foi preparado, obtendo-se posteriormente duas frações semipurificadas: FAQ e EPA (Patente Requerida, sob sigilo pela Universidade Estadual de Maringá - INPI - Protocolo n° 000802 de 28 de novembro de 2000).

### *Análise cromatográfica*

Foi realizada cromatografia em camada delgada a partir dos extratos das amostras **AMO1** e **AMO2**, empregando-se placas de sílica gel F<sub>254</sub>. Foi utilizada cafeína como substância de referência com sistema eluente: acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10; v/v) e visualização sob luz ultravioleta a 254 nm <sup>10</sup> e, catequina e epicatequina, com sistema eluente: acetato de

etila: ácido fórmico: água (90:5:5; v/v) e visualização sob luz ultravioleta a 254 nm e solução etanólica de cloreto férrico a 1% <sup>11</sup>.

A fração semipurificada EPA, da **AMO1**, foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em cromatógrafo líquido Gilson modelo 321, com injetor manual Rheodyne. Coluna (c: 250 mm; ø 4mm; Merck) preenchida com LiChrospher® 100 RP-18 com tamanho de partícula de 5 µm; alça de 20 µl.

A amostra foi solubilizada em metanol, na concentração de 1,0 mg/ml. O sistema eluente utilizado foi gradiente binário, com velocidade de fluxo de 0,9 ml/min, entre ácido acético 5% em água e metanol <sup>12</sup>. Os cromatogramas foram observados nos comprimentos de onda de 272 e 280 nm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados da análise química preliminar realizada com as amostras de sementes de guaraná estão apresentados na Tabela 1 e mostram a presença de substâncias químicas que podem caracterizar a espécie.

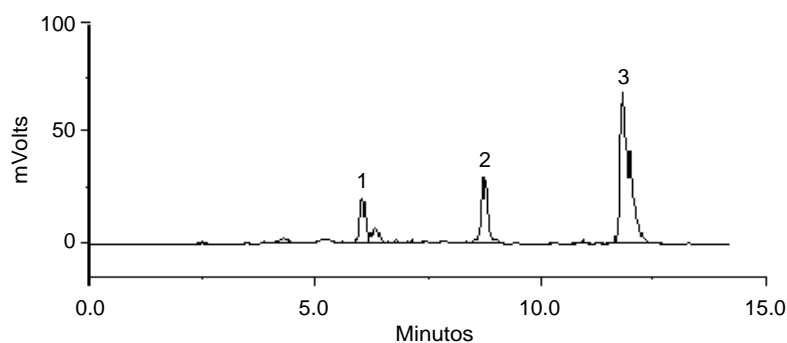
Grupo químico	AMO1	AMO2
Taninos	+	+
Compostos antracênicos	+	+
Compostos aromáticos simples	+	+
Metilxantinas	+	+
Flavonóides	-	+
Saponinas	-	-

**Tabela 1.** Análise química preliminar das amostras de sementes de guaraná.

A perda por dessecação, fator importante no controle de qualidade de fitoterápicos, refere-se ao teor de umidade e/ou substâncias voláteis presentes na droga vegetal. A determinação de umidade na planta seca torna-se importante quando se considera o uso de matéria-prima vegetal na produção industrial de fitoterápicos. Obteve-se para a **AMO1** 8,98 ± 0,268%, e para a **AMO2** 10,55 ± 0,25%. O teor de umidade estabelecido nas diferentes farmacopéias varia entre 8 e 14%, com poucas exceções especificadas em monografias <sup>13</sup>. De maneira geral, para uma boa conservação, a droga vegetal deve possuir um teor mínimo de umidade, e no caso de sementes, esse teor deve variar entre 12 a 13% <sup>14</sup>. Assim, a quantidade de água residual encontra-se dentro dos limites para drogas vegetais farmacopéicas.

Solvente (v/v)	Rendimento (%)			
	AMO1 ( $x \pm dp$ )	CV(%)	AMO2 ( $x \pm dp$ )	CV(%)
Acetona:água (7:3)	21,20 $\pm$ 1,17	5,52	29,33 $\pm$ 0,28	0,95
Acetona:água (7:1)	20,48 $\pm$ 2,73	13,33	24,50 $\pm$ 0,37	1,53
Etanol:água (1:1)	17,49 $\pm$ 0,00	0,00	28,08 $\pm$ 0,42	1,48
Metanol:água (1:1)	14,98 $\pm$ 2,50	16,68	23,41 $\pm$ 0,41	1,74

**Tabela 2.** Determinação do resíduo seco das amostras de sementes de guaraná.



**Figura 1.** Cromatograma da fração EPA contendo catequina (1), epicatequina (2) e cafeína (3). Coluna LiChrospher® 100 RP-18 (250 mm x 4mm), velocidade de fluxo de 0,9 ml/min, entre ácido acético 5% em água e metanol, detecção a 272 e 280 nm.

A determinação do teor de extrativos é um método utilizado para quantificar constituintes extraíveis da droga vegetal, que pode ser considerado como uma característica própria e pode auxiliar na avaliação da qualidade dessa droga vegetal. Os resultados obtidos para as amostras analisadas foram: **AMO1** 22,98% (m/v) e **AMO2** 33,63% (m/v).

A determinação do resíduo seco foi realizada a partir de uma solução extrativa obtida através de diferentes solventes. O melhor rendimento, para ambas as amostras, foi obtido quando se utilizou acetona:água (7:3; v/v) (Tabela 2).

A obtenção de uma maior quantidade de extrativos com o líquido extrator acetona:água, serve de parâmetro na avaliação da qualidade da droga vegetal. Esse dado também é importante, tanto no controle de qualidade industrial, como é útil em nível tecnológico, por indicar as melhores condições para uma extração eficiente.

A avaliação da qualidade pode ser complementada por análises quantitativas de seus constituintes originais. Nessa determinação são incluídas técnicas de doseamento de substâncias ativas ou outros componentes característicos. O teor de taninos totais encontrado para **AMO1** foi de  $5,92 \pm 0,24\%$  e para **AMO2** foi de  $4,14 \pm 0,25\%$ . No doseamento de metilxantinas obteve-se para **AMO1** valor de  $6,07 \pm 0,07\%$ , enquanto que **AMO2** apresentou um valor superior de  $7,78 \pm 0,11\%$ . As duas amostras encontram-se dentro

de valores considerados normais em comparação com a literatura para as sementes de guaraná<sup>1,2,9</sup>. Após as análises realizadas com as duas amostras, confirmaram-se a qualidade e semelhança de ambas em teores de substâncias químicas características (metilxantinas e taninos).

A análise cromatográfica em camada delgada das amostras, **AMO1** e **AMO2**, apresentou uma mancha com o mesmo valor de  $R_f$  (0,43) como a observada para a cafeína. Da mesma forma, foram observados valores de  $R_f$  (0,72 e 0,71) para a catequina e epicatequina, respectivamente.

A fração semipurificada EPA, avaliada através da CLAE, apresentou um cromatograma semelhante ao obtido por Marx<sup>12</sup>, com os tempos de retenção para catequina, epicatequina e cafeína de 6,17, 8,85 e 11,91 min, respectivamente (Figura 1).

Os métodos empregados no doseamento de extratos e o estabelecimento de um *fingerprint*<sup>15,16</sup> por CLAE são fundamentais na padronização de extratos vegetais. Os métodos farmacopéicos e o doseamento de grupos de substâncias para drogas vegetais, no entanto, são comuns de serem encontrados em farmacopéias<sup>15</sup>.

Assim, pode-se concluir, após a análise de todos os dados apresentados, que o controle de qualidade tanto das sementes como de extratos de guaraná são passíveis de serem avaliados pelos métodos propostos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Henman, A.R. (1982) *J. Ethnopharmacol.* **6**: 311-38.
2. Duke, J.A. (1987) "*Handbook of Medicinal Herbs*", CRC Press. Florida., p. 349.
3. Simão, A.M., J. Muradian & J.P.P. Carvalho (1986) *Síntese* **10**: 9-15.
4. Von Poser, G.L. & L.A. Mentz (2001) "*Diversidade biológica e sistemas de classificação*", em "*Farmacognosia: da planta ao medicamento*", Ed. Universidade /UFRGS/Ed. da UFSC, cap. 4, págs. 61-74.
5. Harborne, J.B. (1990) "*Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*". 2ª Ed. Chapman and Hall, London.
6. Cardoso, M.L.C. (2002) "*Desenvolvimento de técnica analítica e tecnológica na obtenção de extratos secos nebulizados de *Heteropteris aphrodisiaca* O. Mach - Malpighiaceae - (nó-de-cachorro)*". Tese de Doutorado (Ciências Farmacêuticas, UNESP), São Paulo, Brasil.
7. Mello, J.C.P. & P.R. Petrovick (2000) *Acta Farm. Bonaerense.* **19**: 211-5.
8. Glasl, H. (1983) *Dtsch. Apoth. Ztg.* **123**: 1979-83.
9. Andrade, L. (1996) "*Estudo da metodologia de análise da droga vegetal guaraná*". Dissertação de Mestrado (Ciências Farmacêuticas, UFRGS), Rio Grande do Sul, Brasil.
10. *Farmacopéia brasileira* (2001) 4ª Ed., fasc. III, Atheneu, São Paulo.
11. *Farmacopéia brasileira* (2003) 4ª Ed., fasc. IV, Atheneu, São Paulo.
12. Marx, F. (1990) *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **190**: 429-31.
13. Farias, M.R. (2001) "*Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais*". En: "*Farmacognosia: da planta ao medicamento*", Ed. Universidade /UFRGS/Ed. da UFSC, cap.12, págs. 199-222.
14. Bacchi, E.M. (1996) "*Controle de qualidade de fitoterápicos*". En: "*Plantas medicinais: Arte e Ciência - Um guia de estudo interdisciplinar*". UNESP, São Paulo, cap.12, págs.169-186.
15. Sticher, O., B. Meier & A. Hasler (2000) "*The analysis of Ginkgo flavonoids*". En: "*Ginkgo biloba*". Harwood academic publishers, The Netherlands, cap. 10, págs. 179-202.
16. Sticher, O. & B. Meier (1998) "*Hawthorn (*Crataegus*) Biological Activity and New Strategies for Quality Control*". En: "*Phytomedicines of Europe Chemistry and Biological Activity*". ACS Symposium, Series 691, American Chemical Society, cap. 17, págs. 241-62.