

1.06.01 – Química Analítica.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO GUARANÁ (*Paullinia cuppana*) EM FUNÇÃO DO PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA, TENDO COMO MARCADOR A CAFEÍNA

André L. Sampaio da Silva Junior¹*, Herick Macedo Santos², Janclei Pereira Coutinho³, Raildo Mota de Jesus⁴

1. Estudante de IC em Química da UESC, Universidade Estadual de Santa Cruz

2. Mestre em Química analítica UESC, Pesquisador da UESC

3. Doutor em Ciência de Alimentos UNICAMP, Professor da UESC

4. Doutor em Química Analítica, Professor da UESC / Orientador

Resumo:

O guaraná (*Paullinia cuppana*) é um produto originalmente brasileiro, típico da floresta amazônica e bastante conhecido por seu potencial energético. Embora seja nativo da região amazônica, seu cultivo se mostrou adaptável às condições climáticas na região do sul da Bahia, que, desde o ano 2000, passou a ser o maior produtor de guaraná no Brasil. Os trabalhos acerca da composição química de guaraná estão associados especialmente à determinação de compostos orgânicos e atividade biológica em amostras de guaraná da região do Amazonas. Entretanto, há poucos estudos sobre o guaraná produzido no estado da Bahia. Nesta região, os produtores utilizam três tipos de secagem das sementes: (i) agdã rotativo, que pode alcançar temperaturas acima de 100 °C; (ii) secagem ao sol e (iii) secagem em estufa natural. O objetivo desse trabalho foi determinar o melhor processo de secagem das sementes de guaraná tendo como marcador a cafeína, e também considerando a concentração de teobromina, catequina e epicatequina.

Autorização legal: Não foi necessário a autorização de nenhum comitê ou órgão referente a execução desta pesquisa.

Palavras-chave: Cromatografia; Cafeína; Guaraná

Apoio financeiro: Fapesb – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia.

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UESC.

Introdução:

O guaraná é um produto muito conhecido e apreciado no exterior devido suas qualidades energéticas e gastronômicas. Estudos revelam que as sementes de guaraná são ricas em cafeína, podendo conter até 8% de sua massa seca, juntamente com teofilina, teobromina, flavonoides e amido, chegando a representar cerca de 3 a 6% do peso do fruto [1]. Estima-se que o teor de cafeína em sementes de guaraná é cerca de 4 a 6 vezes maior que o encontrado em grãos de café, folhas de chá e nozes de cola. [1-2].

A maior parte dos trabalhos sobre a composição química do guaraná está relacionada à determinação de compostos orgânicos ou atividade biológica de amostras provenientes da região amazônica. No entanto, há poucos estudos sobre o guaraná produzido no estado da Bahia. A região do baixo sul, localizada ao longo da Costa do Dendê, é a maior produtora de guaraná no Brasil. Sua produção, no período de 1990 a 2013, alcançou uma média de 2735 toneladas, quantidade muito superior a outros estados produtores como Acre (17,6), Mato Grosso (257,5), Para (33,6) e o próprio Amazonas (752,2) [3]. A elevada produção de guaraná na Bahia pode ser atribuída às condições edafoclimáticas encontradas no baixo sul do estado, tais como o índice pluviométrico, temperatura e umidade relativa do ar, assim como a forma de manejo adotada pelos produtores baianos. O guaraná tem notoriedade na indústria alimentícia, onde cerca de 70% da produção é direcionada a bebidas gaseificadas. Os demais 30% são direcionados para a exportação e consumo interno.

Considerando a relevância que o guaraná pode exercer na economia do estado da Bahia, é importante avaliar o fator preponderante para sua qualidade (teor de cafeína), tendo em vista que os agricultores utilizam métodos diferentes de processamento pós-colheita para tratamento do guaraná. São utilizadas secagem em agdã rotativo (forno em chapa de ferro com sistema de rotação das sementes), que pode alcançar temperaturas acima de 100 °C; secagem ao sol e secagem em estufa natural. A temperatura ideal para o processamento do guaraná é de alta importância, pois, dependendo da temperatura empregada, pode haver perda dos compostos bioativos. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar a melhor temperatura de tratamento das sementes de guaraná tendo como marcador principal a cafeína, mas considerando também a concentração de teobromina, catequina e epicatequina.

Metodologia:

Amostragem: As amostras foram coletadas diretamente em propriedades rurais produtoras de guaraná nos municípios de Nilo Peçanha/BA, Camamu/Ba, Taperoá/Ba e no município de Valença/Ba. Foi adquirida cerca de 5 kg de amostra *in natura* para tratamento e submissão a uma rampa de aquecimento. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e, em seguida, homogeneizada e particionada em quatro partes. Foram lavadas e separadas para o processo de secagem em rampa de aquecimento, empregando-se nove

temperaturas diferentes em estufa com circulação de ar nas seguintes condições: 40°C por 48 horas, 60°C por 36 horas, 70°C por 24 horas, 90°C por 6 horas, 120°C por 6 horas, 150°C por 6 horas e 200°C por 6 horas, até que as sementes atingissem a umidade de 7%. Após a secagem, as sementes foram trituradas em moinho de bolas.

Preparo de amostras: Para a determinação de cafeína e teobromina, aproximadamente 50 mg de pó do guaraná foi transferida para um funil de separação de 125 mL. Ao funil foram adicionados 60 mL de acetato de etila e, em seguida, foram adicionados lentamente 10 mL de uma solução de NaOH 0,2 mol L⁻¹. A partição foi homogeneizada, por cerca de 10 minutos, cuidadosamente para não ocorrer a formação de emulsão. Posteriormente, a fração orgânica foi coletada e transferida para um balão de fundo redondo. Fez-se uma segunda e uma terceira partição com 40 mL de acetato de etila para finalização do processo de extração líquido-líquido. O acetato de etila foi evaporado em um rota-evaporador a temperatura de 65° C. Após a evaporação, as amostras foram ressuspensas com 10 mL de água deionizada, filtradas em filtro Millex (Merck) 0,45 µm de poro, e injetadas no HPLC.

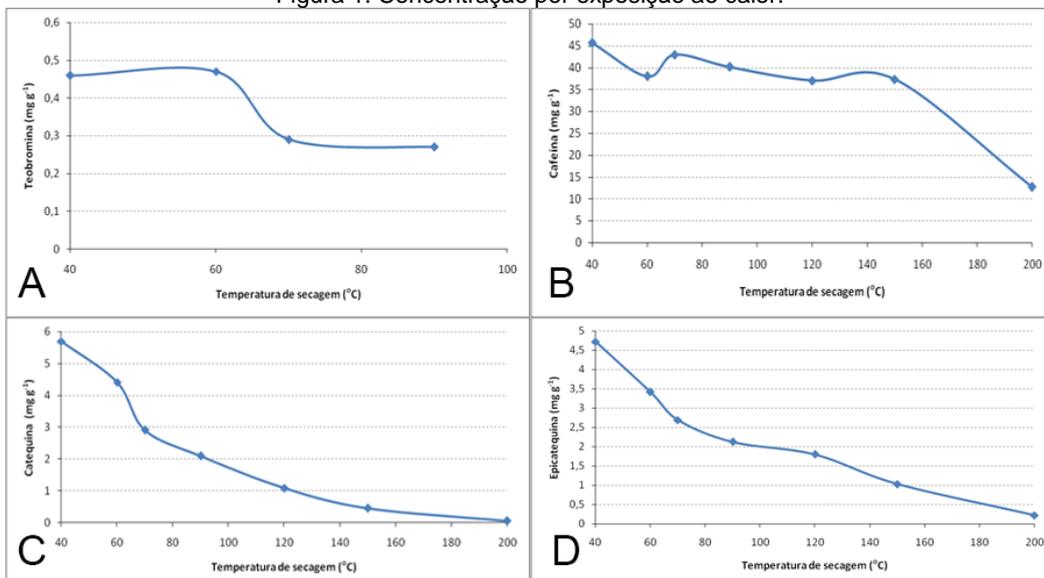
Para a quantificação de catequina e epicatequina, 100 mg de pó do guaraná foram transferidos à um tubo Falcon® de 15 mL, no qual adicionou-se 5 mL de água deionizada e 5 mL de acetona. Em seguida, os tubos foram submetidos à agitação em Vortex por 1 minuto e sonicadas em equipamento ultrassom com frequência de 50 Hz a 45° C por 5 minutos. Após a sonicação, as amostras foram filtradas em filtro de Millex 0,45 µm e injetadas no HPLC.

Instrumentação: Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC), modelo Prominence LC-20^a Shimadzu (Japão), com detector UV-Vis ajustado para o comprimento de onda de 274 nm, sistema com quatro bombas e sistema de injeção manual com *loop* de 20 µL. A coluna utilizada foi C18 (fase composta por grupos fenil (12,3%), octadecil (20%) e octil (12,5%)) ShimPack Shimadzu (Japão) com 250 mm de comprimento, tamanho de partícula 4,6 µm, tamanho de poro 12 nm e temperatura ajustada para 40° C. O método cromatográfico empregado foi baseado no trabalho desenvolvido por Nascimento [5]. A fase móvel utilizada foi metanol grau cromatográfico e uma solução aquosa de ácido acético 0,1% (v/v), com gradiente partindo de 100% de solução aquosa de ácido acético 0,1% (Solvente A), variando para 100% de metanol (Solvente B) após o tempo de 9,85 minutos. O fluxo da fase móvel foi de 0,74 ml min⁻¹.

Resultados e Discussão:

Os resultados dos experimentos realizados com a amostra de guaraná colhida *in natura* e submetida a diferentes temperaturas (rampa de aquecimento), nos revelam que, a medida em que se aumenta a temperatura, ocorre a degradação de metilxantinas e flavonoides. Podemos observar como a temperatura é um fator expressivo na (Figura 1).

Figura 1. Concentração por exposição ao calor.

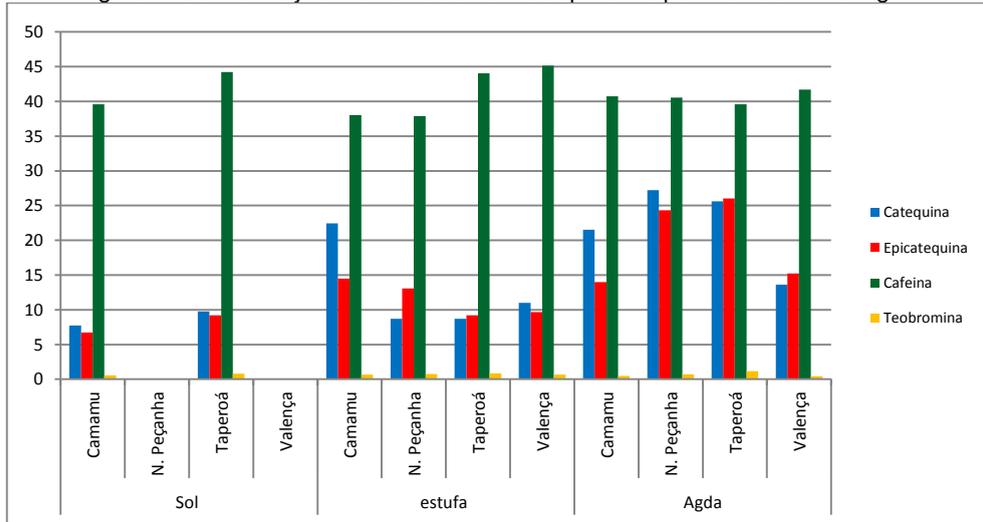


De acordo com os gráficos mostrados na Figura 1, observa-se que a exposição das sementes de guaraná a temperaturas a partir de 60 °C provocaram a degradação dos compostos Teobromina (Fig. 1A), Catequina (Fig. 1C) e Epicatequina (Fig. 1D). No entanto, a cafeína mostrou-se um composto mais resistente a degradação por influência da temperatura, onde sua degradação só é pronunciada a partir de 150°C. Esta informação é necessária, pois mostra um indicativo sobre a forma ideal de tratamento pós-colheita do guaraná, já que o processo de secagem por Agdá pode alcançar altas temperaturas, enquanto a secagem ao sol e em estufa alcançam temperaturas mais amenas.

As 69 amostras coletadas nas fazendas do baixo sul foram separadas por grupos, referente ao modo de secagem utilizado pelos agricultores. A partir da Figura 2, pode-se analisar que os teores para cafeína, em geral, se mantiveram numa faixa aproximada de concentração, tendo em vista, que no experimento anterior, este composto mostrou maior estabilidade em função da temperatura. Porém, para teobromina, catequina e

epicatequina foram obtidas concentrações discrepantes quanto a forma de secagem das sementes.

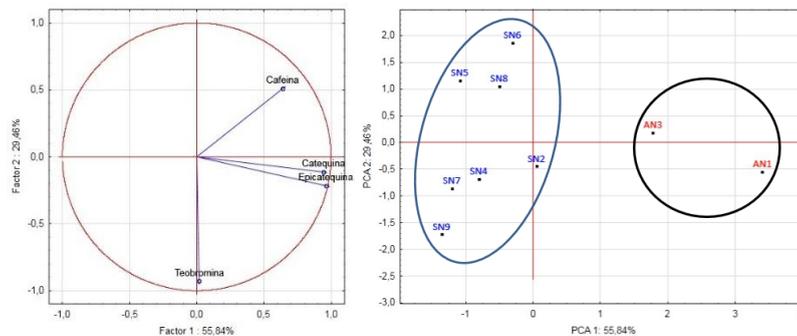
Figura 2. Concentração média das cidades separadas por método de secagem



Nenhuma amostra coletada nas regiões de Nilo Peçanha e Valença foi submetida a secagem ao sol, por isto não há barras referente a concentração de amostras secas ao sol nessas cidades. De acordo com os resultados obtidos no experimento anterior (rampa de aquecimento), esperava-se que as amostras secas em agdá apresentassem a menor concentração de teobromina, catequina e epicatequina, entretanto, olhando para as médias gerais das referente as concentrações em cada grupo de secagem (municípios), observa-se um aumento proeminente no teor de catequina e epicatequina em amostras secas em agdá. Para verificar se os tratamentos sol, agdá e estufa eram significativamente diferentes para as concentrações de cafeína, catequina, epicatequina e teobromina, foi aplicado a Análise de Variância (ANOVA), onde encontrou-se que, para o nível de 95% de confiança, os métodos de secagem se diferenciam nas concentrações de catequina e epicatequina.

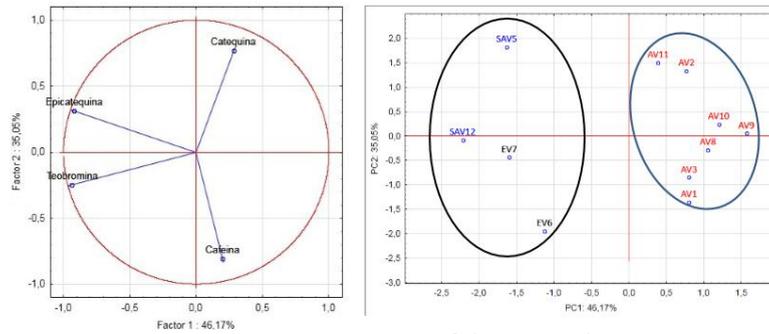
Utilizando o Statistica 10.0, foi aplicado a Análise de Componentes Principais (PCA) para verificar se os dados corroboravam com a ANOVA, mostrando a formação de grupos relacionados a forma de secagem das sementes de guaraná, tendo as concentrações dos compostos como variáveis. De acordo com os resultados mostrados no PCA (figura 3), verifica-se que o processo de secagem agdá se diferencia de secagem tanto ao sol como em estufa.

Figura 3. PCA 1 x PCA 2 com 85,30% de resposta para a cidade de Nilo Peçanha



Assim como a ANOVA discriminou os valores referentes a catequina e epicatequina, observa-se que para o PCA, essas duas variáveis são fatores que influenciam juntamente para a separação de amostras secas em agdá (vermelho) e secas ao sol (azul). Houve também a formação de grupos separando as amostras secas em estufa e secas em agdá, conforme mostra o PCA da (Figura 4). Entretanto, não houve separação de grupos para amostras secas ao sol e secas em estufa. Isto se deve ao fato de que a exposição ocorre a temperaturas similares, e as suas concentrações resultam em valores semelhantes.

Figura 4. PCA 1 x PCA 2 com 81,22% de resposta para cidade de Valença



Pode-se observar que as amostras tratadas em agdã (vermelho) agrupadas em uma região diferente no gráfico em relação as amostras secas em estufa (preto) e sol (azul), corroboram o fato de que os métodos de secagem ao sol e estufa não apresentam diferenças significativas, diferentemente do agdã, que corrobora com a ANOVA, sendo significativamente diferente dos outros tratamentos de secagem de semente.

Com estes resultados, percebe-se que o tratamento no qual se alcança a maior temperatura demonstrou a melhor qualidade relativa as concentrações de catequina e epicatequina, contradizendo o experimento da rampa de aquecimento. Porém, segundo Gadkari[5], os fatores que são mais influentes na degradação das catequinas e epicatequinas são a exposição à radiação solar e ao oxigênio. Tendo em vista que a secagem das sementes em estufa e ao sol demoram de 3 a 5 dias para alcançarem umidade aceitável, o tempo de exposição aos fatores deletérios são bem maiores do que no agdã, que alcança umidade aceitável em apenas algumas horas. Desta forma o fator temperatura se mostrou menos agressivo do que o tempo de exposição.

Conclusões:

A cafeína mostrou estabilidade quanto a variação de temperaturas, tendo início a sua degradação a partir dos 150 °C. Desse modo, considerando apenas a cafeína, qualquer um dos processos de secagem pode ser apropriado para o processamento pós-colheita. Em contrapartida, levando-se em consideração todos os compostos numa avaliação geral, percebe-se que um tipo de processamento no qual há muito tempo de exposição ao oxigênio e a luz, pode ocasionar diminuição na concentração de catequina e epicatequina do que o efeito de altas temperaturas, tornando o método de processamento pós-colheita de secagem por agdã mais adequado para utilização.

Embora favoreça a concentração dos flavonoides (catequina e epicatequina), a secagem em agdã possibilita a incidência de fumaça nas sementes de guaraná, gerando substâncias tóxicas ao organismo, tais como os HPA's (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos). Portanto, é necessário um estudo mais aprofundado sobre esse tipo de secagem.

Referências bibliográficas

- [1] PAGLIARUSSI, R. S.; FREITAS, L. A. P.; BASTOS, J. K. **A quantitative method for the analysis of xanthine alkaloids in Paullinia cupana (guarana) by capillary column gas chromatography.** Journal of Separation Science, v. 25, p. 371-374, 2002.
- [2] EDWARDS, H. G. M.; FARWELL, D. W.; OLIVEIRA, L. F. C.; ALIA, J. M.; HYARIC, M. L.; AMEIDA, M. V. **FT-Raman spectroscopic studies of guarana and some extracts.** Analytica Chimica Acta, v. 532, p. 177-186, 2005
- [3] INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Levantamento Sistemático da produção Agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil.** Rio de Janeiro v. 29, n. 01, p. 1-78, 2016
- [4] MADSON MOREIRA NASCIMENTO. **Estratégias analíticas para Determinação de Metilxantinas e Flavonoides em amostras de chocolates artesanais com diferentes teores de cacau.** Ilhéus-Bahia, 2016.
- [5] GADKARI, P.V.; BALARAMAN, MANOHAR. **Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A Review.** Food and Bioproducts Processing. Elsevier, v. 93, p.122-138, 2015.