

Figura 2 - Aspectos microscópicos do pó em *Gentiana lutea* L.

A escala corresponde a 50 μ m.

Aspecto geral da droga em pó: colênquima (co); células de parênquima (cp); elementos de vaso (ev); gotas lipídicas (gl); porções de periderme (pe); porções de súber (su).

GUARANÁ, semente *Paulliniae semen*

A droga vegetal consiste de sementes secas, desprovidas de arilo e tegumento (casquilho) de *Paullinia cupana* Kunth, contendo, no mínimo, 4% de taninos totais, no mínimo, 5% de metilxantinas, e, no mínimo, 3,5% de cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$, 194,19).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A semente é globosa, quando única no fruto, ou subglobosa a elipsoide e levemente comprimida lateralmente, quando duas ou três no fruto, desigualmente convexas nos dois lados, geralmente apresentando uma curta projeção apical. Em regra tem 0,6 a 0,8 cm de diâmetro e é coberta por um tegumento, denominado de casquilho, que deve ser descartado. A semente sem o tegumento é exalbuminada e contém dois grandes cotilédones carnosos, espessos e firmes, desiguais, plano-convexos, de coloração castanho-escuro. A cicatriz do arilo mantém-se nos cotilédones e é enegrecida. O embrião é pouco desenvolvido e possui um curto eixo radículo-caulinar inferior.

B. Descrição microscópica

Os cotilédones apresentam externamente uma epiderme unisseriada, formada por células alongadas tangencialmente, seguida por um parênquima cotiledonar de células arredondadas ou arredondado-poliédricas, de 40 a 80 µm de diâmetro. Contém grãos de amido simples e compostos, de formas variadas, globosos, poligonais, ovalados ou elípticos, de 10 a 25 µm de diâmetro. O hilo é central e por vezes ramificado. A maioria dos grãos encontra-se aglutinada e deformada devido ao aquecimento durante a dessecação.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração castanho-clara a castanho-avermelhada; porções de células do parênquima cotiledonar, em geral isodiamétricas, amareladas, com ou sem massas de grãos de amido aglutinados; grãos de amido isolados, com hilo central; massas de grãos de amido aglutinados. Fragmentos do tegumento, quando presentes até o limite permitido, formados por células em paliçada de paredes muito espessas e pouco pontoadas, sinuosas em vista frontal; células pétreas agrupadas ou isoladas.

D. Descrição macroscópica das impurezas

O tegumento, se presente como impureza, denominado de casquilho, apresenta testa brilhante, glabra, castanho-avermelhada ou pardo-negra, com um largo hilo guarnecido de um arilo carnosos, membranoso e esbranquiçado, que cobre a semente até, no máximo, sua porção mediana. Na ocasião da coleta ou dessecação, o arilo é retirado, deixando uma cicatriz de coloração pardo-creme opaca, em forma de cúpula, que ocupa até 1/3 do eixo longitudinal da semente. Na dessecação, o tegumento torna-se quebradiço e separa-se facilmente dos cotilédones.

E. Descrição microscópica das impurezas

O tegumento, se presente como impureza, apresenta, em secção transversal, uma epiderme formada por grandes células, dispostas em paliçada, de paredes espessas, com poucas pontoações. Estas apresentam paredes sinuosas, em vista frontal. Abaixo da epiderme encontram-se várias camadas de um parênquima com células irregularmente espessadas, de aparência parda. Ocorrem numerosas células pétreas, de paredes nitidamente pontoadas.

Caracterização da presença de taninos

F. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1).

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, tolueno e ácido fórmico (7:3:0,5).

Solução amostra: pesar 1 g da droga moída e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 20 mL de água e aquecer, sob refluxo, durante 15 minutos. Filtrar em algodão e concentrar 4 mL do filtrado à secura em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol.

Solução referência: solução a 1 mg/mL de catequina em metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração castanha (catequina)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Caracterização da presença de metilxantinas

G. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1).

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (10:1,4:1).

Solução amostra: agitar 1 g da droga em 3 mL de hidróxido de amônio a 25% e 40 mL de diclorometano durante 15 minutos. Filtrar e levar à secura uma alíquota de 5 mL, em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e proceder a análise cromatográfica.

Solução referência: solução a 1 mg/mL de cafeína em metanol.

Revelador (1): solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em etanol.

Revelador (2): iodo SR.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 a 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em etanol, e, em seguida, com solução de iodo SR.

Resultados: no esquema abaixo estão representada a sequência de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Cafeína: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração pardo-castanha (cafeína)
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 12%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3%, incluindo o casquilho.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 2%, incluindo o casquilho.

Contagem do número total de micro-organismos mesófilos (5.5.3.1.2). Cumpre o teste.

Pesquisa de micro-organismos patogênicos (5.5.3.1.3). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga moída, transferir para erlenmeyer e adicionar 150 mL de água. Aquecer até fervura e manter em banho-maria à temperatura de 80 °C a 90 °C, durante 30 minutos. Resfriar em água corrente, transferir, quantitativamente, a mistura para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Deixar decantar o sedimento e filtrar em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 691 nm (A_1), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: adicionar 0,2 g de pó de pele a 20 mL da *Solução estoque* e agitar mecanicamente durante 60 minutos. Filtrar. Diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância da solução em 691 nm (A_2), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver 50 mg de pirogalol em água, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Diluir 5 mL dessa solução em balão volumétrico de 100 mL com água. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância da solução em 691 nm (A_3), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente e dentro de 15 minutos da dissolução do pirogalol, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_1}$$

em que,

TT = taninos totais % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação; e

m_2 = massa em gramas, de pirogalol.

Metilxantinas

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da droga pulverizada (500) (5.2.11). Extrair com 20 mL de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v), com agitação mecânica, durante 15 minutos. Repetir a extração quatro vezes. Filtrar e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume

com o ácido sulfúrico a 2,5% (v/v). Transferir uma alíquota de 1 mL desta solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com ácido sulfúrico a 2,5% (v/v).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de cafeína em ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) para obter solução a 500 µg/mL.

Procedimento: determinar a absorvância da *Solução amostra* e da *Solução referência* em 272 nm, utilizando solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) para ajuste do zero. Calcular o teor de metilxantinas, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TM = \frac{A_a \times C_r}{A_r \times m \times 10}$$

em que,

TM = teor de metilxantinas % (p/p);

A_a = absorvância medida para a *Solução amostra*;

A_r = absorvância medida para a *Solução referência*;

C_r = concentração da *Solução referência* em µg/mL; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

Cafeína

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 272 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilfenil (4 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: água, metanol e ácido trifluoracético (70:30:0,005).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga vegetal seca e moída (500) (5.2.11) em balão de fundo redondo. Adicionar 15 mL de etanol a 70% (v/v), levar ao banho-maria a temperatura de 90 °C, sob refluxo, durante 30 minutos. Após resfriamento, filtrar a solução em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Extrair novamente o resíduo da droga retida no balão de fundo redondo e no algodão com 10 mL de etanol a 70% (v/v), sob refluxo, durante 10 minutos. Após resfriamento, filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com etanol a 70% (v/v).

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de cafeína em metanol para obter solução a 130 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção médio para o pico da cafeína é de 8,5 minutos. Calcular o teor de cafeína, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a \times 25 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TC = teor de cafeína % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

A_a = área sob o pico correspondente à cafeína na *Solução amostra*;
 A_r = área sob o pico correspondente à cafeína na *Solução referência*; e
 m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

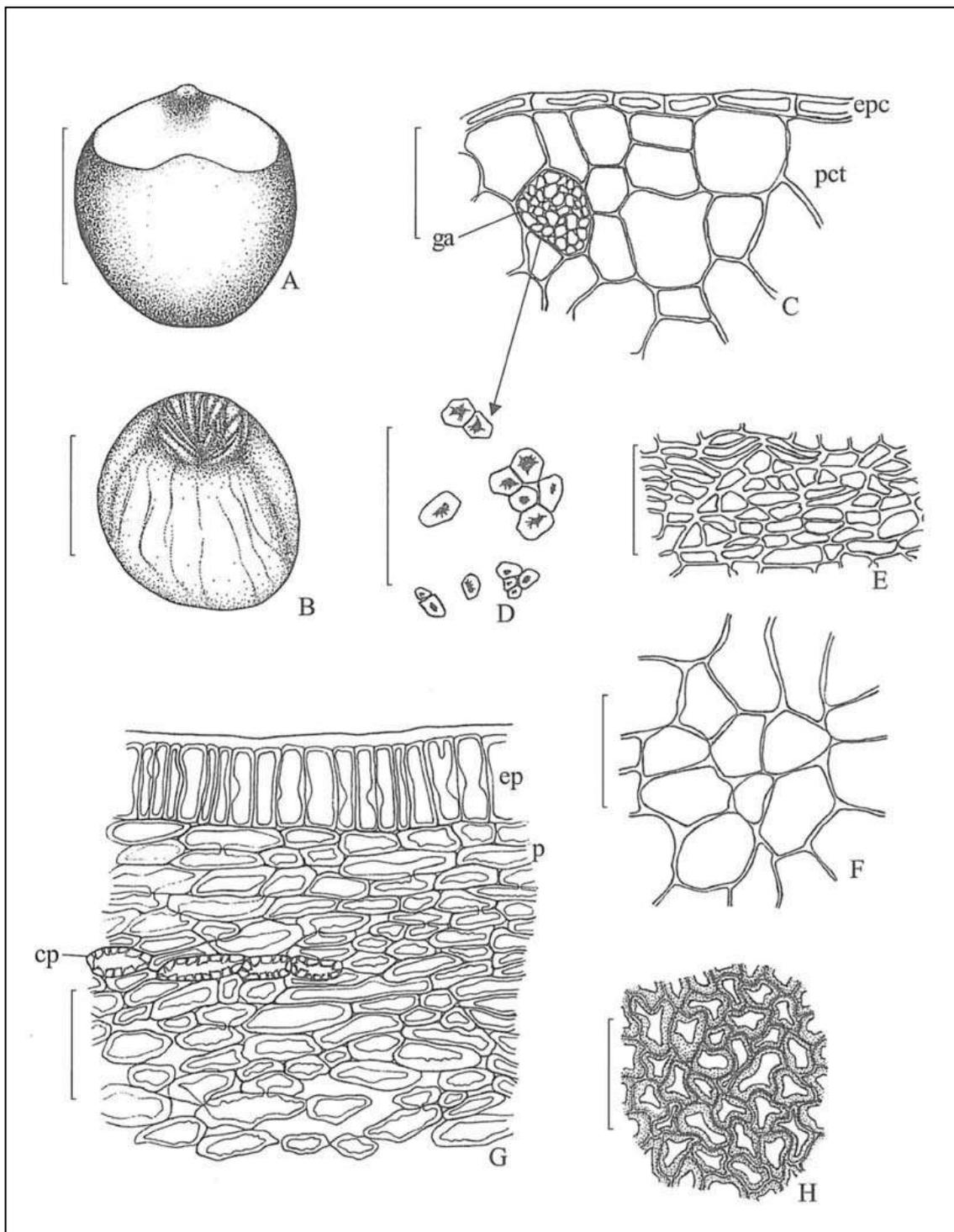


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Paullinia cupana* Kunth

As escalas correspondem: em A e B (4 mm), em C até H (100 μ m).

A – aspecto geral da semente. **B** – aspecto geral dos cotilédones. **C** – secção transversal da porção externa de um cotilédone; epiderme cotiledonar (epc); célula contendo grãos de amido (ga); parênquima cotiledonar (pct). **D** – detalhe dos grãos de amido. **E** – células epidérmicas dos cotilédones em vista frontal. **F** – células parenquimáticas dos cotilédones. **G** – detalhe da secção transversal do tegumento da semente; células pétreas (cp); epiderme do tegumento (ep); parênquima (p). **H** – células epidérmicas do tegumento em vista frontal.