



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE  
ALIMENTOS**

**RENDIMENTO DE CAFEÍNA EXTRAÍDA DO EPICARPO  
LENHOSO DE SEMENTES DE GUARARNÁ (*Paullinia cupana*  
H.B.K. var. *Sorbilis*) SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE  
EXTRAÇÃO**

**NEUZIMAR DA SILVA PACHECO**

**MANAUS  
2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
MESTRADO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**NEUZIMAR DA SILVA PACHECO**

**RENDIMENTO DE CAFEÍNA EXTRAÍDA DO EPICARPO  
LENHOSO DE SEMENTES DE GUARARNÁ (*Paullinia cupana*  
H.B.K. var. *Sorbilis*) SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE  
EXTRAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências de Alimentos, na área de concentração Ciências de Alimentos.

**Orientador: Professor Dr. José Merched Chaar**

**MANAUS  
2011**

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

P116r	<p>Pacheco, Neuzimar da Silva Rendimento de cafeína extraída do epicarpo lenhoso de sementes de guaraná (Paullinia cupana H.B.K. var. sorbilis) sob diferentes condições de extração / Neuzimar da Silva Pacheco . 2011 114 f.: il. color; 31 cm.</p> <p>Orientador: José Merched Chaar Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Amazonas.</p> <p>1. Guaraná. 2. Epicarpo. 3. Extração. 4. Cafeína. 5. Clae. I. Chaar, José Merched. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título</p>
-------	---

**NEUZIMAR DA SILVA PACHECO**

**RENDIMENTO DE CAFEÍNA EXTRAÍDA DO EPICARPO  
LENHOSO DE SEMENTES DE GUARARNÁ (*Paullinia cupana*  
H.B.K. var. *Sorbilis*) SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE  
EXTRAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências de Alimentos, na área de concentração Ciências de Alimentos.

Aprovado em 29 de abril de 2011

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup>. Dra. Helyde Albuquerque Marinho  
Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lidia Medina Araújo  
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Prof. Dr. Jamal da Silva Charar  
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

*“Não basta ensinar ao homem uma especialidade, porque se tornará uma máquina indestrutível, mas não uma personalidade. É necessário que adquira um sentimento; um senso prático daquele que vale a pena ser empreendido, daquilo que é belo, do que é moralmente correto.”*

*Albert Einstein*

## DEDICATÓRIA

*Aos meus amados Pais, Daguiamar Mafra Pacheco e Clezia da Silva Pacheco pelas palavras de carinho de amor em todos os momentos e por me mostrar que estudar é tudo na vida;*

*Ao meu filho, Daniel Mendonça Pacheco pela paciência, carinho e compreensão em todas as horas;*

*Aos meus sogros e amigos, Ozeas Cardoso da Silva e Lucilene Mendonça da Silva pela força incondicional e pela presteza sempre.*

*E a Deus, me amparando em todos os minutos de minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Merched Chaar, pela orientação, apoio e amizade.

Ao Prof. Dr. Jefferson Rocha de Andrade Silva, por permitir uso do laboratório de química, equipamentos e reagente no desenvolvimento deste trabalho.

Aos doutorandos do curso de química Dominique Fernandes Moura do Carmo, Junior Ribeiro Carvalho e Felipe Moura Araujo da Silva pelas informações e ajuda no uso dos equipamentos do laboratório de química.

Ao técnico químico Juliano Passos de Souza pela ajuda na preparação das amostras.

A todos os professores pelas aulas administradas em especial aos que participaram da banca de avaliação deste mestrado.

Aos colegas de Mestrado, pelo companheirismo e boas horas de estudos.

E a todos que direta e indiretamente contribuíram na realização deste projeto.

## RESUMO

*Paullinia cupana* H.B.K, var. *sorbilis*, 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, porem vários outros usos já foram relatados como: efeito estimulante, antitérmico, antineuralgico (BETENDORF, 1909), ação antigripal (DEWICK, 1998), afrodisíaco, analgésico e antidiarréico (HENMAN, 1982; DUKE, 1985; BENOWITZ, 1990). Trata-se de matéria-prima amplamente utilizada no Brasil, empregada na produção de bebidas refrigerantes carbonatadas que faz do guaraná uma das bebidas mais consumidas do mundo (GOODMAN & GILMAN, 1996), (SOUSA, 1991), como também, xaropes, bebida tônica, artesanato, fonte de cafeína, e em preparações cosméticas, no tratamento de pele oleosa e celulite. O fruto destaca-se pelo seu notável conteúdo de cafeína que é designada como trimetilxantina e faz parte de um grupo de compostos classificados como alcalóides verdadeiros (alcalóides purínicos) que podem ser extraídos empregando-se substâncias tóxicas e de custo elevado, tais como acetona, metanol, clorofórmio e diclorometano. Tradicionalmente, o extrato de guaraná é obtido na indústria de bebidas através de infusão em solução hidroalcoólica o que acarreta o arraste de outras substâncias como ácidos tânico, que interferem negativamente na qualidade dos extratos obtidos. O objetivo geral deste trabalho foi extrair cafeína do epicarpo lenhoso das sementes de guaraná (casquilho), subproduto da produção de guaraná em pó, de baixo custo e alta concentração do alcalóide (CHAAR, 1990). Para isto foi empregado seis formas de processo extrativo compreendendo água potável de poço à 100°C pH 5.1 e 7.5, utilizando sistema de soxhlet; mistura hidroalcoólica, utilizando água potável de poço e álcool comercial a 97°GL nas concentrações de (40:60% v/v), pH 5.3 e 7.5 e (60:40% v/v), pH 5.6 e 7.5. Para obtenção do pH 7.5 utilizou-se hidróxido de sódio. As extrações utilizando mistura hidroalcoólica foram realizadas em temperatura ambiente. Todas as amostras ficaram por um período variável de 1, 3, 6 e 12 horas e foram filtradas utilizando funil de buchner e papel de filtro qualitativo em sistema de vácuo. As amostras foram armazenadas em frasco de vidro de cor âmbar a temperatura ambiente. Realizou-se limpeza dos filtrados utilizando solução saturada de acetato de chumbo e bicarbonato de sódio. A determinação de cafeína foi realizada por CLAE.

**Palavras-chave:** Guaraná, epicarpo, extração, cafeína, CLAE.

## ABSTRACT

*Paullinia cupana* H.B.K, var. *sorbilis*, known as guarana is a typical Brazilian plant, being intense and mainly cultivated in the Amazon region. It is used in folk medicine as a stimulant of brain functions, but several other uses have already been reported as: stimulating, antithermal, antineuralgic effect (BETENDORF, 1909), anti-flu action (DEWICK, 1998), aphrodisiac, analgesic and antidiarrheal (HENMAN, 1982; DUKE, 1985; BENOWITZ, 1990). It is a raw material widely used in Brazil, used in the production of carbonated soft drinks that makes guarana one of the most consumed beverages in the world (GOODMAN & GILMAN, 1996), (SOUSA, 1991), as well as syrups, tonic beverage, crafts, caffeine source, and cosmetic preparations, in the treatment of oily skin and cellulite. The fruit stands out for its remarkable caffeine content, which is called trimethylxanthene and is part of a group of compounds classified as true alkaloids (purinic alkaloids) that can be extracted using toxic and high-cost substances such as acetone, methanol, chloroform and dichloromethane. Traditionally, guarana extract is obtained in the beverage industry through infusion in hydroalcoholic solution, which causes the drag of other substances such as tannic acids, which negatively interfere in the quality of the extracts obtained. The general objective of this work was to extract caffeine from the woody epicarp of guarana seeds (bearing), a byproduct of guarana powder production, low cost and high alkali concentration (CHAAR, 1990). For this, six forms of extractive process comprising well drinking water at 100°C pH 5.1 and 7.5 were used, using a soxhlet system; hydroalcoholic mixture, using well drinking water and commercial alcohol at 97°GL at concentrations of (40:60% v/v), pH 5.3 and 7.5 and (60:40% v/v), pH 5.6 and 7.5. Sodium hydroxide was used to obtain pH 7.5. Extractions using hydroalcoholic mixture were performed at room temperature. All samples were for a variable period of 1, 3, 6 and 12 hours and were filtered using buchner funnel and qualitative filter paper in vacuum system. The samples were stored in amber glass jar at room temperature. The filtrates were cleaned using saturated solution of lead acetate and baking soda. Caffeine was determined by HPLC.

**Keywords:** Guarana, epicarp, extraction, caffeine, HPLC.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES E GRÁFICOS

<b>Figura 1</b>	Aspectos Botânicos	23
<b>Figura 2</b>	Fruto do Guaraná	23
<b>Figura 3</b>	Amazonas. Área de concentração da produção de guaraná	25
<b>Figura 4</b>	Fluxograma do processo produtivo	36
<b>Figura 5</b>	Estrutura química da cafeína e metilxantinas relacionadas	51
<b>Figura 6</b>	Metabolismo da cafeína em humano	54
<b>Figura 7</b>	Fluxograma de Produção do Casquilho	74
<b>Figura 8</b>	Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 5.1 por 1 hora	91
<b>Figura 9</b>	Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 5.1 por 3 horas	92
<b>Figura 10</b>	Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 5.1 por 6 horas	92
<b>Figura 11</b>	Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 5.1 por 12 horas	92
<b>Figura 12</b>	Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 7.5 por 1 hora	93
<b>Figura 13</b>	Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 7.5 por 3 horas	93
<b>Figura 14</b>	Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 7.5 por 6 horas	93
<b>Figura 15</b>	Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 7.5 por 12 horas	94
<b>Figura 16</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60% v/v), pH 6.3 por 1 hora	94
<b>Figura 17</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60% v/v), pH 6.3 por 3 horas	94
<b>Figura 18</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60% v/v), pH 6.3 por 6 horas	95
<b>Figura 19</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60% v/v), pH 6.3 por 12 horas	95
<b>Figura 20</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60% v/v), pH 7.5 por 1 hora	95
<b>Figura 21</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60% v/v), pH 7.5 por 3 horas	96
<b>Figura 22</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60% v/v), pH 7.5 por 6 horas	96
<b>Figura 23</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60% v/v), pH 7.5 por 12 horas	96
<b>Figura 24</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40% v/v), pH 5.6 por 1 hora	97
<b>Figura 25</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40% v/v), pH 5.6 por 3 horas	97

<b>Figura 26</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40% v/v), pH 5.6 por 6 horas	97
<b>Figura 27</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40% v/v), pH 5.6 por 12 horas	98
<b>Figura 28</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40% v/v), pH 7.5 por 1 hora	98
<b>Figura 29</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40% v/v), pH 7.5 por 3 horas	98
<b>Figura 30</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40% v/v), pH 7.5 por 6 horas	99
<b>Figura 31</b>	Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40% v/v), pH 7.5 por 12 horas	99

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	Brasil. Produção de guaraná em sementes	26
<b>Quadro 2</b>	Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano	76
<b>Quadro 3</b>	Padrão de aceitação organoléptico e físico-químico para consumo humano	76
<b>Quadro 4</b>	Controle microbiológico em água de poço	87
<b>Quadro 5</b>	Resultados dos ensaios organolépticos e físico-químicos em água de poço	88
<b>Quadro 6</b>	Resultados de cafeína em casquilho de guaraná em comparação as amostras de sementes de guaraná, segundo vários autores	89

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Brasil. Produção e produtividade de guaraná em sementes	27
<b>Tabela 2</b>	Canais de comercialização do guaraná de Maués - 1999	28
<b>Tabela 3</b>	Composição centesimal do casquilho de sementes de guaraná em comparação a semente de guaraná de vários autores	90
<b>Tabela 4</b>	Composição mineral do casquilho de sementes de guaraná em comparação a sementes de guaraná de vários autores	90
<b>Tabela 5</b>	Rendimentos de extração de cafeína do casquilho de guaraná	114
<b>Tabela 6</b>	Rendimentos comparativo de extração em meio ácido e alcalino	114

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>AGLs</b>	Ácidos Graxos Livres
<b>FGV</b>	Fundação Getúlio Vargas
<b>FIBGE</b>	Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>g</b>	Gramma
<b>NaOH</b>	Hidróxido de Sódio
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Água
<b>HPLC</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b>ISAE</b>	Instituto Superior de Administração e Economia
<b>µg</b>	Micrograma
<b>µL</b>	Microlitro
<b>µm</b>	Micromiligrama
<b>mg</b>	Miligrama
<b>%</b>	Porcento
<b>Ø</b>	Diâmetro
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>Kg</b>	Quilograma
<b>Km</b>	Quilômetro
<b>SUFRAMA</b>	Superintendência da Zona Franca de Manaus

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	17
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	19
2.1 Guaraná	19
2.1.1 Descrição da espécie	20
2.1.2 Nomes comuns	24
2.1.3 Aspectos econômicos	24
2.1.4 Plantio, colheita e beneficiamento	32
2.1.5 Agroindústria do guaraná – Guaraná em pó	35
2.1.6 Uso	37
2.1.7 Caracterização do guaraná	38
2.1.8 Propriedades farmacológicas e uso terapêutico	40
2.1.9 Composição química	42
2.2 Cafeína	47
2.2.1 Uso	47
2.2.2 Aspectos farmacocinéticos	49
2.2.2.1 Considerações gerais	49
2.2.2.2 Absorção, metabolismo e excreção	53
2.2.3 Aspectos farmacodinâmicos	60
2.2.4 Mecanismos de ação e desempenho	61
2.2.5 Efeitos colaterais	62
<b>3. OBJETIVOS</b>	64
3.1 Geral	64
3.2 Específico	64
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	65
4.1 Modelo de estudo	65
4.2 Amostras de casquilhos	65
4.3 Colheita	66
4.4 Pós-colheita	67
4.5 Despulpamento	67
4.5.1 Características dos despulpadores utilizados	67
4.6 Lavagem	68
4.7 Beneficiamento	69
4.7.1 Secagem ao sol	69
4.7.2 Torração	71
4.8 Armazenamento	72
4.9 Controles microbiológicos e físico-químicos de potabilidade básica de água de poço	75
4.10 Determinação de cafeína pelo método espectrofotométrico	77
4.11 Composição centesimal de casquilho	78
4.11.1 Cálcio	78
4.11.2 Carboidratos	79
4.11.3 Cinzas	79
4.11.4 Cobre	80
4.11.5 Ferro	80
4.11.6 Fibra bruta	80
4.11.7 Gordura total	81
4.11.8 Magnésio	81
4.11.9 Potássio	82
4.11.10 Proteína	82
4.11.11 Umidade	83
4.11.12 Zinco	83
4.12 Extração de cafeína	83
4.12.1 Extração a quente em pH ácido e básico	84
4.12.2 Extração a frio em solução hidroalcoólica (40:60% v/v) e (60:40% v/v) em pH ácido e básico	84
4.13 Metodologia analítica para determinação de cafeína	84
4.13.1 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	85

<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	87
5.1	Controles microbiológicos	87
5.2	Determinação de cafeína pelo método	88
5.3	Composição centesimal	89
5.4	Análise por cromatografia	91
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	101
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	103

## 1. INTRODUÇÃO

A cafeína proveniente de fontes naturais tem sido consumida e apreciada pela espécie humana, em todo o mundo, há centenas de anos. Segundo Roberts & Barone (1983) o uso desta base xantínica remota a era paleolítica. A ocorrência em inúmeros vegetais, caracterizados pela freqüência em diversas regiões do mundo, costuma ser apontada como uma das causas de sua grande utilização. Graham (1998), Roberts & Barone (1983) e Syed (1976) relatam que os Astecas empregavam as sementes de *Theobroma cacao* L., para confeccionarem alimentos, antes do descobrimento da América; as folhas de *Thea sinensis* L., são empregadas no preparo do chá, há milênios, pelos asiáticos; o café, bebida feita com as sementes de várias espécies do gênero *Coffea*, pelos silvícolas africanos, foi difundido pelos árabes no Velho Mundo, no século passado e hoje goza de prestígio universal; o chá-mate, obtido a partir das folhas de *Ilex paraguayensis* A.

Além do cacau, do chá, do café e do mate, mais de 60 espécimes de plantas, foram identificados, como produtoras de cafeína. Esta substância, de acordo com os registros históricos foi isolada pela primeira vez, do chá, em 1820 por Friedlieb Runge (ROBERTS & BARONE, 1983); (SYED, 1976).

De acordo com Maia (1972) e Maravalhas (1965) outra espécie produtora de cafeína cujo interesse no Brasil tem aumentado muito é o guaraná. Esse vegetal conhecido cientificamente, como *Paullinia cupana* H.B.K., é uma espécie de grande potencial econômico na Amazônia.

Seu cultivo data da época pré-colombiana e era efetuado por diversas tribos indígenas, entre as quais os Maués e os Andirás no Baixo Amazonas e os Barés no Alto Rio Negro (ALBUQUERQUE, 1937); (ANGELUCCI et al., 1978); (AZEVEDO, 1964); (BARRETO, 1935); (BRITO, 1930); (CABRAL, 1932); (CORRÊA, 1952); (CRULS, 1948); (EMBRAPA, 1983); (MARAVALHAS, 1965); (PAULA, 1967); (PIRES, 1949).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Guaraná

O guaraná pertence à família das *Sapindáceas*, gênero *Paullinia*, espécie *cupana*, oriunda da flora brasileira (CORREIA, 1984). É uma planta tipicamente brasileira, sendo intensa e principalmente cultivada na região central da Bacia Amazônica. É empregada na preparação de bebidas estimulantes (BECK, 1990) e na medicina popular como estimulante das funções cerebrais, porém vários outros usos já foram relatados como afrodisíaco, antitérmico, analgésico e antidiarréico (HENMAN, 1982). Dados históricos levam a crer que o guaraná já era conhecido pelas tribos Maués, Andirás e Marabitanas da Amazônia, sendo usado como alimento e em preparações líquidas devido ao seu efeito estimulante, antes da chegada dos europeus na América (HENMAN, 1982). É uma espécie de vegetal arbustiva e trepadeira, cujo nome provém do termo indígena “varana”, que significa árvore que sobe apoiada em outra. Sua importância comercial tem aumentado significativamente, a partir da década de 70 (MOUSINHO, 1984). Segundo Azevedo (1964), Barreto (1935), Brito (1930), Cabral (1932), Cagno (1942), Corrêa (1952), Ducke (1946), Embrapa (1983), Figuerêdo (1936) e Maia (1972), são conhecidas duas variedades desta espécie:

*Paullinia cupana* H.B.K. variedade *cupana*;

*Paullinia cupana* H.B.K. variedade *sorbilis* (Martius) Ducke.

A diferença entre essas duas variedades encontra-se relacionada principalmente com suas flores e frutos. Na primeira as flores e frutos são maiores, chegando ao triplo do tamanho daqueles da segunda. Seus frutos por sua vez são obovados, piriforme, de coloração vermelho-escura e providos de pouco brilho. Esta variedade é encontrada na região das Bacias do Alto Rio Negro e do Rio Orinoco.

A segunda espécie possui frutos aproximadamente esféricos, providos de coloração vermelho-vivo e brilhante, sendo freqüente na região de Maués (MOUSINHO, 1984). Weckerle e col. (2003) abordam em uma publicação recente a investigação da composição quimiotaxonômica de 34 distintas espécies do gênero *Paullinia*.

### **2.1.1 Descrição da Espécie**

Segundo Arens (1956), Azevedo (1964) e Corrêa (1952), *Paullina cupana* H.B.K., é um arbusto latescente trepador ou suberecto, medindo até dez metros de altura, possuidor de casca escura e ramos de disposição tirsóides de quatro a oito milímetros de diâmetro na base das ramificações mais calibrosas.

As folhas são providas de cinco folíolos, sendo que quatro são opostos dois a dois, ficando o quinto na extremidade da folha. As bainhas são bem desenvolvidas e relacionam-se, as brácteas são caducas, uma de cada lado da folha. O pecíolo principal mede de oito a dezenove centímetros é canaliculado no bordo superior (AZEVEDO, 1964); (CORRÊA, 1952). Bainha da folha medindo em media 1,5 centímetros e a dos folíolos 0,03 centímetros comumente. Os folíolos têm forma quase oval e ápice dentado, com largura que varia de 10 a 14 centímetros e comprimento de 27 a 33 centímetros, tendo as nervuras no bordo inferior bastantes visível (AREIA, 1966); (CORRÊA, 1952).

As brácteas são encontradas tanto na inserção das folhas com o caule como nas inflorescências. Na base de cada feixe de flores, que se insere no eixo principal da inflorescência, existem também brácteas, enquanto que no pedicelo de cada flor ocorre uma bractéola (AZEVEDO, 1964); (CABRAL, 1932); (CORRÊA, 1952).

A inflorescência é em forma de panícula que varia de 5 a 20 centímetros de comprimento. Nela ocorrem flores masculinas e femininas, incompletamente unissexuadas, sendo que as flores femininas apresentam os estames aparentemente normais e as anteras indeiscentes, enquanto que as masculinas possuem ovário atrofiado com óvulos estéreis, estilete e estigmas pouco desenvolvidos e que caem 3 a 5 dias após a antese. As inflorescências ocorrem geralmente na axila das folhas ou na base de uma gavinha (CABRAL, 1932); (CORRÊA, 1952).

As flores encontram-se dispostas no eixo principalmente da inflorescência, formando feixes de 3 a 5. A deiscência das flores se verifica por volta das 6 horas e quando soltam o pólen emitem aroma característico das flores de jasmim. Com freqüência, ocorrem ao mesmo tempo numa mesma inflorescência, ovários bastante desenvolvidos, flores fecundadas, botões florais e frutos desenvolvidos na mesma inflorescência, razão pela qual as colheitas se prolongam por até 3 meses. Do início da floração à colheita, decorrem geralmente 3 a 4 meses (AZEVEDO, 1964); (CABRAL, 1932).

O cálice é composto de 5 sépalas, das quais duas são menores e externas, enquanto que as outras 3 são mais estreitas e semelhantes às pétalas (CORRÊA, 1952).

A corola é formada geralmente de 4 pétalas brancas em forma de capus ou calha e possuem internamente escamas coriáceas (CORRÊA, 1952).

O órgão reprodutor masculino é formado por 8 estames de 3 tamanhos distintos e dotados de pêlos longos com anteras glabras. O órgão reprodutor feminino é formado de um ovário tricarpelado, trilobulado com um óvulo por lóculo, existindo 2 óvulos em cada loja (CABRAL, 1932). O estigma é trifido. Pode ocorrer fecundação de 1, 2 ou 3 óvulos de um mesmo ovário. Os grãos de pólen têm formato triangular, sendo provido de 3 poros de germinação (MILANEZ, 1958).

O fruto, pontiagudo na extremidade, é uma cápsula pequena, com pedúnculo desenvolvido e cuja deiscência é septicida. Quando ainda não amadurecido, o fruto tem coloração verde-escuro e quando maduro apresenta-se vermelho ou vermelho-alaranjado. Internamente, a cápsula é branca, podendo apresentar 1, 2 ou 3 lojas desenvolvidas, dependendo da fecundação dos óvulos (CABRAL, 1932); (CAGNO, 1942); (MILANEZ, 1958).

A semente, a parte mais utilizada da planta, tem forma redonda, coloração castanho escuro e brilhante (FARIA, 2000), de textura crustácea, tegumento fino, sendo envolvido por um manto seminal branco e farináceo que constitui o arilo e que está localizado na base da semente, onde se encontra o embrião (ARENS, 1956); (CABRAL, 1932); (MILANEZ, 1958).

As sementes de guaraná se caracterizam pelo alto teor de metilxantinas, principalmente cafeína e em menor quantidade teofilina e teobromina, além de altas concentrações de taninos terem sido descritas (DUKE, 1987)

A semente é tipicamente albuminada sendo provida de embrião vigoroso contendo cotilédones robustos (ARENS, 1956); (CABRAL, 1932).

Um dos problemas atribuídos aos fitoterápicos está relacionado a 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 (VON POSER & MENTZ, 2001).



Fonte: <http://www.colegiosaofrancisco.com.br/alfa/guarana/guarana-8.php>

**Figura 1.** Aspectos Botânicos



Fonte: <http://www.vtn.com.br/academias-de-ginastica/guarana/>

**Figura 2.** Fruto do Guaraná

### **2.1.2 Nomes Comuns**

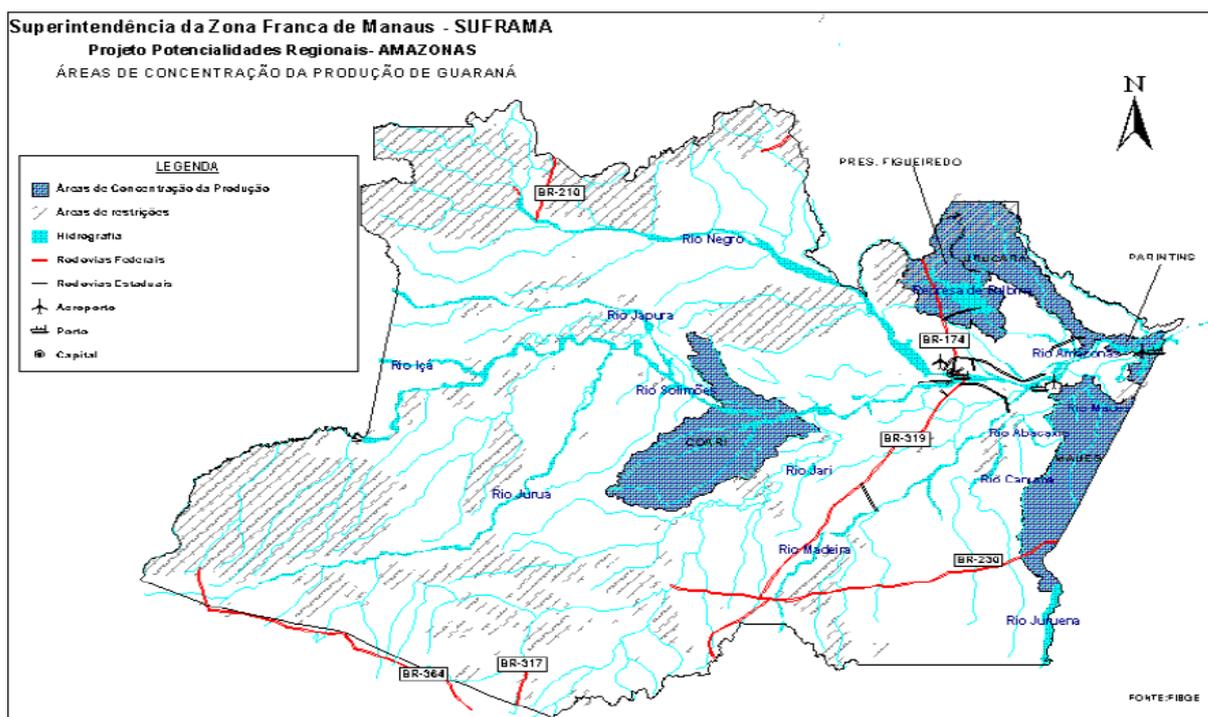
Guaranastrauch (Alemanha), Guaraná (Espanha), Guarana (Inglaterra), Guaranà (Itália). No Brasil é conhecida como guaraná, guaranazeiro, naranazeiro, guaraná de Maués e guaraná do Baixo Amazonas.

### **2.1.3 Aspecto Econômico**

De acordo com a Embrapa (1983), o guaraná (variedade *sorbilis*) parece ter sido domesticado na metade meridional do Amazonas entre a foz dos rios Purus e Madeira. Em meados do século passado, noticiava-se sua ocorrência basicamente nos atuais municípios de Borba, Urucará, Maués e Parintins.

O guaranazeiro (MMA/SCA, 1998); (EMBRAPA, 1998); (COSTA & SOUZA, 1999) é encontrado em estado nativo nas regiões compreendidas entre os rios Amazonas, Maués, Paraná do Ramos e Negro (estado do Amazonas) e na bacia do Rio Orinoco (Venezuela) (SUFRAMA, 2003).

Atualmente, a área de cultivo comercial do guaraná já ultrapassou a fronteira da Amazônia. Está sendo cultivado comercialmente no Amazonas, Acre, Rondônia, Roraima, Pará, Mato Grosso e Bahia. No Amazonas, a área de plantio atinge os municípios de Maués, Parintins, Barreirinha, Urucará, Itacoatiara, Autazes, Careiro, Manacapuru, Manaus, Borba e Tabatinga, descrita na Figura 3. (EMBRAPA, 1983).



Fonte: Superintendência da Zona Franca de Manaus – SUFRAMA

**Figura 3.** Amazonas. Área de Concentração da Produção de Guaraná

Estima-se a produção atual de ramas de guaraná no país em torno de 4.300 toneladas/ano. Dessa produção, 70% sejam absorvidos pelas indústrias de refrigerantes gaseificados, sob a forma de xarope, enquanto que os 30% restantes são comercializados sob a forma de xarope, pó, bastão, extrato para consumo interno e para a exportação (IBGE, 1999); (SUFRAMA, 2003). O Amazonas deixou de ser o maior produtor nacional, conforme os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, disposto no Quadro 1, sendo ultrapassado pela Bahia nos quesitos “produção” e “produtividade”, e pelo Mato Grosso em “produtividade” somente. Tais diferenças substantivas de produtividade referem-se ao fato de o sistema de produção adotado na Bahia e Mato Grosso utilizar a combinação de grandes áreas de monocultivo, irrigação, uso de defensivos agrícolas (SUFRAMA, 2003).

ESTADOS	POTENCIAL PARA O CULTIVO (HECTARES)	2000 (em hectares)	
		Área plantada	Área da produção
Acre	2.500.000	-	-
Amapá	1.500.000	2.000	-
Amazonas	50.000.000	1.200	1.200
Bahia	-	6.050	6.050
Maranhão	-	-	-
Mato Grosso	500.000	-	-
Pará	10.000.000	45.213	27.359
Rondônia	1.000.000	-	-
Roraima	4.000.000	-	-
Tocantins	500.000	-	-
<b>Total</b>	<b>70.000.000</b>	<b>54.463</b>	<b>34.609</b>

Fonte dos dados brutos: Fundação do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

Elaboração: Instituto Superior de Administração e Economia-Fundação Getúlio Vargas.

(-) Dados não disponíveis.

#### **Quadro 1.** Brasil. Produção de guaraná em sementes

Dentro do estado do Amazonas, só o município de Maués, a 356 quilômetros de Manaus, produziu cerca de 200 toneladas em 2001, concentrando 37% da produção estadual do guaraná neste mesmo ano. Esta produção de Maués está distribuída por aproximadamente, 2.600 produtores, em 2.427 hectares de área plantada, destacando-se a Fazenda Santa Helena, de propriedade da Companhia de Bebidas das Américas – AMBEV (titular da marca “Antartica” de bebidas gaseificadas), 1070 hectares, dos quais 430 são campos de cultivo (SUFRAMA, 2003).

No município de Presidente Figueiredo, a Agropecuária Jayoro iniciou em 2000 um projeto de guaraná que totaliza 600 hectares, dos quais já foram plantados mais de 150 hectares. Ainda neste município, a Santa Cláudia possui 80 hectares e a Arosucos S/A adquiriu, em 2000, mudas suficientes para o plantio de 100 hectares. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária trabalha, desde o fim dos anos 90, com pesquisas experimentais de clonagem de mudas de guaranazeiros resistentes a doenças e de alta produtividade (entre 400 e 600 quilogramas/hectares), as quais estão sendo distribuídas, desde 2000, para os guaranaicultores. Delineia-se, pois, um cenário de elevação consistente da oferta de sementes de guaraná em um futuro próximo, e com maior produtividade por hectare (Tabela 1) (SUFRAMA, 2003).

**Tabela 1.** Brasil. Produção e Produtividade de Guaraná em Sementes

Estados	1998		1999		2000		2001(**)	
	Produção (Tonelada)	Rendimento (Kg/ha)						
Acre	35	200	41	200	47	200	50	397
Amazonas	1354	234	2370	306	899	196	542	122
Bahia	1828	496	2549	516	2770	478	2816	482
Mato Grosso	335	577	194	276	390	395	409	419
Pará	22	440	162	870	43	361	49	380
Rondônia	69	343	125	403	125	405	-	-
<b>TOTAL (*)</b>	<b>3643</b>	<b>381,7</b>	<b>5441</b>	<b>428,5</b>	<b>4274</b>	<b>339,2</b>	-	-

Fonte dos dados brutos: Fundação do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

Elaboração: Instituto Superior de Administração e Economia-Fundação Getúlio Vargas.

(\*) No quesito “rendimento”, o Total refere-se à média aritmética dos estados produtores no Brasil.

(\*\*) Dados parciais, ainda em processo de consolidação.

(-) Dados não disponíveis.

Os produtores de guaraná em rama de Maués encaminham sua produção, atualmente, para quatro canais distintos de comercialização, conforme Tabela 2. O primeiro deles é a venda para as indústrias de bebidas localizadas em Manaus, especialmente a AMBEV, que manufatura o xarope a ser consumido em suas fabricas de refrigerantes em Manaus (marcas BRAHMA e ANTARCTICA). Estas empresas absorvem aproximadamente 70% do guaraná em sementes anualmente produzido em Maués, equivalente, em 2000, a 168 toneladas e, em 2001, a 140 toneladas de matéria-prima processada (SUFRAMA, 2003).

**Tabela 2.** Canais de Comercialização do Guaraná de Maués – 1999

Produto	Canal/Destino	Quantidade (Kg)	%
Sementes torradas	Indústria de refrigerante/Manaus-AM	200.000	71,4
Sementes torradas	Exportação/Japão	1.342	0,5
Pó	Exportações oficiais/Mato Grosso	2.452	0,8
Bastões	Exportações oficiais/Mato Grosso	15.398	5,5
Ramas+Pó+Bastões	Exportações não declaradas (estimativa) / Mato Grosso	60.808	21,8
<b>TOTAIS</b>		<b>280.000</b>	<b>100</b>

Fonte: Ministério da Agricultura – Manaus/AM.

Elaboração: Instituto Superior de Administração e Economia-Fundação Getúlio Vargas.

O segundo canal de comercialização é a exportação direta das sementes para o Japão. O terceiro é a exportação não oficial para Mato Grosso das sementes e o quarto é a venda das ramas para os cerca de 20 moinhos beneficiadores de guaraná em Maués, sendo que todos produzem bastões e somente 3 produzem o pó. Os bastões são destinados ao consumo interno do próprio município, à revenda para Manaus e ao estado do Mato Grosso. Ofertaram, em 2000, um volume aproximado de 100 toneladas de guaraná em bastões, o que representou cerca de 1 milhão unidades (1 bastão = 100 gramas). O pó de guaraná destina-se a Manaus, sendo embalado pela indústria de fitofármacos. Este canal representa 30% da oferta anual de guaraná em rama, assim dividido: os bastões absorvem 20%, ou seja, 48 toneladas em 2000 e 40 toneladas em 2001, enquanto o pó absorveu 10%, isto é, 24 toneladas em 2000 e 20 toneladas em 2001 (SUFRAMA, 2003).

A produtividade do Amazonas é baixa (cerca de 150 Kg/hectares) e a dos pequenos produtores menor ainda, sendo comuns colheitas de 30 a 50 Kg hectares. Se os produtores adotassem as tecnologias que envolvem o manejo correto da cultura, aliado ao uso de mudas originadas de plantas melhoradas, tecnologia que a Embrapa já disponibilizou para a região, a produtividade seria de pelo menos 400 Kg/hectares (SUFRAMA, 2003).

Os guaranaicultores de Maués vendem seu guaraná em ramas, por preços que variam entre R\$ 4,60 e R\$ 5,00 por quilograma. Em relação ao canal de comercialização das bebidas gaseificadas, atingiram um faturamento conjunto em 2001 de, pelo menos, R\$ 644.000,00 (=R\$ 4,60/Kg X 140.000 Kg). Esta fatia de mercado tende a crescer, conforme a elevação da demanda de refrigerantes à base de guaraná, particularmente em outros países de renda per capita mais elevada.

A AMBEV, por exemplo, está finalizando acordo com a americana Pepsi Company para distribuição de cervejas e refrigerantes nos Estados Unidos da América em grande escala. Entretanto, trata-se de um mercado altamente oligopolizado, cuja principal barreira à entrada de novos *players* reside na exigência de investimentos fixos e de giro de valores muito elevados, além de um considerável esforço de vendas e de fixação da marca na memória dos consumidores (SUFRAMA, 2003).

Com respeito ao canal de comercialização do bastão, deve-se observar que se trata de um produto cujo mercado consumidor aparece como especial e economicamente restrito, formado pelos habitantes de Maués e Mato Grosso, de renda per capita reduzida e que preferem adquirir o bastão para posterior obtenção do pó por ralagem na língua do pirarucu, observando um entendimento folclórico de que este seria um produto mais puro, de difícil falsificação, o que não aconteceria com o guaraná em pó, adulterável pela adição de pó de serragem de madeira. O preço de venda dos bastões atinge R\$ 10,00 por barra. Assim, pode-se estimar, para o ano de 2000, uma receita média da ordem de R\$ 500.000,00 por empresa beneficiadora, ou R\$ 42.000,00/mês, aproximadamente (SUFRAMA, 2003).

Neste mesmo canal de comercialização, o pó de guaraná alcança um mercado de dimensões bem mais amplas, quais sejam os de Manaus, onde atinge preços que variam de R\$ 4,90 (frasco com 50 gramas) a R\$ 11,90 (frasco com 200 gramas), e os do Centro-Sul e exterior, mercados ainda a desbravar, mas muito promissores, dado o crescimento acelerado da demanda por alimentos e bebidas energéticas para fins de fortalecimento da saúde e embelezamento estético. Além de ser revendido encapsulado ou em frascos, o pó é comprado por lanchonetes e restaurantes para transformá-lo em suco de guaraná ou adicioná-lo a outras bebidas energéticas (açai, laranja, etc.).

Há, portanto, para os investidores de pequeno e médio porte, um potencial mercadológico identificado na manufatura do pó muito maior do que o dos bastões, de mercado restrito, ou do xarope para refrigerantes, de mercado altamente concentrado (SUFRAMA, 2003).

O Brasil é praticamente o único país produtor de guaraná do mundo em escala comercial em cultivos racionais e sistemáticos (SUFRAMA, 2003), excetuando-se pequenas áreas da Amazônia Venezuelana, onde existe cultivo sistemático como ocorre na principal área produtora, o município de Maués. Este, até a poucos anos, era o único município amazonense que cultivava o guaraná com finalidade comercial (EMBRAPA, 1983). Os principais estados produtores são Bahia, Amazonas, Mato Grosso, Acre e Pará (SUFRAMA, 2003).

O produto acabado está chegando também nos seguintes países: Portugal, Canadá, Porto Rico, França, Inglaterra, Líbano e Kuwait. A utilização da marca “Trop” que tem o significado de tropical é uma expectativa de tornar o guaraná brasileiro conhecido nos diversos potenciais de mercado para esse produto internacionalmente (OKAWA, 1969).

Algumas doenças têm contribuído para diminuir a produtividade dos guaranazais, sendo a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum guaranicola*, considerada a mais importante (EMBRAPA, 1982); (BATISTA, 1983); (BATISTA & BOLKAN, 1980). Não se conhece até o momento a intensidade dos danos causados pela antracnose, ou seja, o quanto a produção é afetada devido a sua incidência. É um dado difícil de ser obtido em populações de polinização aberta, que são caracterizadas por uma alta variabilidade genética, traduzida em uma desuniformidade entre plantas com relação à susceptibilidade à doença (EMBRAPA, 1982).

#### **2.1.4 Plantio, Colheita e Beneficiamento**

Espécie facilmente cultivável em toda a Amazônia brasileira recomenda-se que o guaranazeiro seja preferencialmente plantado em áreas de capoeira, derivadas de culturas anuais e empregando técnicas modernas de cultivo (EMBRAPA, 1998); (TINÔCO, 1998). As etapas do processo de produção do guaraná em sementes são:

Aquisição das mudas: preferencialmente, de um propagador fidedigno do ponto de vista fitossanitário, como a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária ou viveiristas particulares tecnicamente credenciados. A partir da safra de 2001, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Amazônia Ocidental vem fornecendo mudas desenvolvidas pelo processo de clonagem (reprodução assexuada), as quais propiciam os benefícios de: a) resistência à doença conhecida como antracnose; b) produtividade em até cinco vezes superior à da planta tradicional; c) precocidade no início da produção (2 anos contra 4 da planta tradicional); d) estabilização da produção comercial 3 anos após o plantio, contra 5 anos da planta tradicional; e) índice de sobrevivência das plantas clonadas no campo superior ao das plantas tradicionais (90 % das primeiras contra 80% das últimas) (NASCIMENTO FILHO et al., 2001).

Plantio: deve ser realizado no início do período chuvoso, em covas de 40 X 40 X 40 centímetros, com espaçamento usual de 5 metros X 5 metros (= 400 plantas / hectare) e preenchidas com 3 quilogramas de adubo orgânico, 120 gramas de superfosfato triplo e, em caso de solos muito ácidos (pH inferior a 5), 500 gramas de calcário dolomítico. Deve-se coletar e transportar a palha para as plantas (SUFRAMA, 2003).

Colheita e secagem: o guaranazeiro flora nos meses mais secos, e o amadurecimento de seus frutos ocorrem dois a três meses depois. A colheita é feita, em media, durante cinco vezes ao ano (SUFRAMA, 2003). Recomenda-se efetuar a tarefa duas vezes por semana, podendo este período ser alterado de acordo com a intensidade de maturação, normalmente, de fins de outubro a início de janeiro (CABRAL, 1932); (MAIA, 1972); (PIRES, 1949). A tarefa é feita manualmente, com o auxílio de uma tesoura de poda, coletando-se somente os frutos maduros (abertos), cortando-se os cachos inteiros que já apresentam mais da metade dos frutos abertos e com coloração avermelhada (SUFRAMA, 2003).

Beneficiamento: a) fermentação: os cachos são amontoados em galpões, durante dois ou três dias, para sofrer leve fermentação e amolecimento das cascas, facilitando seu posterior despulpamento; b) despulpamento: separação das sementes da casca e do arilo, realizando em maquinas despulpadeiras dotadas de polia de 212 milímetros, motor elétrico de 3 cavalo-força e 1.300 rotações por minuto, com rendimento de 900 quilogramas de sementes/hora; c) peneiragem e lavagem: os restos de casca e arilo nas sementes são colocados em uma peneira de arame, com malha de 5 milímetros, e lavados em água corrente, afim de serem retirados; d) secagem, na qual retira-se o ráquis (eixo central de estruturas biológicas ramificadas) e coloca-se os frutos para secar por 10 a 12 horas ao sol; e) torrefação das sementes em fornos de chapa (usualmente utilizados na fabricação de farinha), até o “ponto de estalar”, com umidade entre 8 a 10 por cento, apresentando coloração marrom ao se partirem; f) classificação e seleção: as sementes devem ser separadas em maiores e menores em peneiras especiais (CABRAL, 1932) e (PIRES, 1949), utilizando mesa de gravidade, depois, são selecionadas pelo critério de coloração, o qual indica se a semente passou do ponto de torrefação ideal ou não (uma cor diferente pode influenciar a cor do produto final), descartando-se as sementes rejeitadas (SUFRAMA, 2003).

Transporte: as sementes são conduzidas da fazenda até a fábrica, acondicionadas em sacos de aniagem, onde serão transformadas em pó (SUFRAMA, 2003).

Segundo Brito (1930), Cabral (1932) e Suframa (2003), a comercialização do guaraná pelos produtores processa-se pelas seguintes formas distintas:

- a) Guaraná em ramas: é o grão torrado. É a forma mais utilizada pelos agricultores amazonenses, para venda às cooperativas, intermediários, exportação ou agroindustrialização. Desta última pode-se obter o xarope (concentrado) para consumo direto como bebida energética (ao ser misturado à água) ou para produção industrial de bebidas refrigerantes gaseificados.
- b) Guaraná em bastão (também denominado de rolo ou barra): após torrado, o grão é triturado, pilado e misturado com água, formando uma pasta que será moldada em forma de bastão. Ocorre um processo de panificação por defumação, que consolidará o formato comercial. Segundo Brasil (1982) conceitua-se como
- c) Produto resultante da amêndoa triturada ou pilada, constituindo aglutinados com formato de bastão cilíndrico, defumados, com coloração variando de marrom à preta. Este processo é usado também para artesanato, moldando-se com a pasta diversos tipos de figuras conhecidas como “guaraná dos índios”. Esta forma é bastante usada pelos índios Saterê-Mawé e seus descendentes, sendo muito procurado para venda a turistas em exposição ou como curiosidade (EMBRAPA, 1983).

- d) Guaraná em pó: o grão torrado ou o bastão, ao ser moído, fornece o guaraná em pó que a forma como o produto é normalmente comercializado (SUFRAMA, 2003). Segundo Brasil (1982); SUFRAMA (2003) é o produto obtido da amêndoa finamente triturada, moída ou pilada após secagem. Esta forma é pouco usada pelos agricultores, porém é uma das mais correntes no comércio varejistas, sendo superada pela forma de xaropes e essências para refrigerantes, que é exclusiva de indústrias de considerável tecnologia e nível de capitalização (EMBRAPA, 1983).

#### **2.1.5 Agroindústria do Guaraná – Guaraná em pó (SUFRAMA, 2003).**

- a) Descrição do processo produtivo

Recepção e pesagem: os sacos com as sementes são recepcionados na fábrica e pesados. Se a empresa recepcionar o guaraná já beneficiado de outros produtores, ou seja, em sementes em sacos de aniagem, estes sacos são pesados e conduzidos diretamente à etapa de moagem mecanizada.

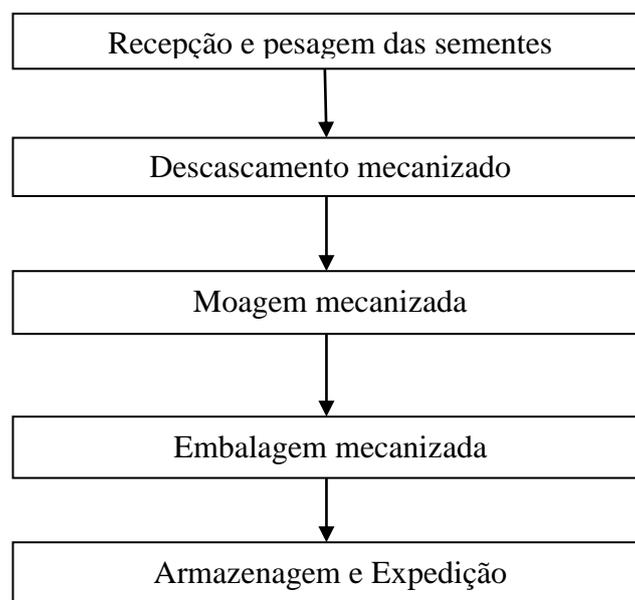
Descascamento mecanizado: consiste na retirada do pericarpo ou casquilho da semente torrada do guaraná, o qual representa 20% de seu peso, em máquina despulpadeira (a mesma empregada no descascamento da mamona, com rendimento de aproximadamente 800 Kg/dia). As sementes torradas com aspecto de baixa qualidade são descartadas.

Moagem mecanizada: as amêndoas (sementes torradas e descascadas) são transformadas em pó por esmagamento em um moinho de martelo, com peneiras finas (o mesmo utilizado no beneficiamento do urucum, com rendimento nesta etapa de 70%, ou seja, para cada 1 Kg de semente produz-se 700 g de guaraná em pó).

Embalagem mecanizada: é o acondicionamento do guaraná em pó em (a) frascos de plástico transparente com 50 g em (b) cápsula gelatinosa de 500 mg, processadas em máquinas de encapsular e colocadas em frascos com capacidade para 70 unidades. Os dois tipos de frascos são embalados em caixas de papelão com espaço para 24 unidades cada.

Armazenagem e expedição: as caixas são encaminhadas a galpões da empresa e podem aguardar até 02 (dois) anos para serem comercializadas, prazo de sua validade para consumo.

b) Fluxograma do Processo Industrial



**Figura 4.** Fluxograma do Processo Produtivo

### 2.1.6 Uso

O uso do guaraná é antigo. Os indígenas que habitavam o baixo Amazonas, na região conhecida como Mundurucânia, situada no vale dos rios Tapajós e Madeira empregavam as sementes na fabricação do bastão de guaraná (CORRÊA, 1952). Nas tribos dos Mundurucus e Maués, os pajés empregavam os bastões na elaboração de beberagens de guaraná para a cura de doenças diversas (BARRETO, 1935). Era também conhecida pelos indígenas a ação estimulante do vegetal, tido na época como fortificante especial, gozando da fama de “elixir da longa vida” (AZEVEDO, 1964); (BARRETO, 1935); (SCHULTES, 1955).

Atualmente, o guaraná tipo exportação é apresentado nas seguintes formas: rama selecionada (sementes), rama comum (sementes), bastões ou pães, guaraná dos índios, pó, xarope, extrato e licor (EMBRAPA, 1983); (PIRES, 1949).

Em regiões da Amazônia, Mato Grosso e Goiás está muito difundido o uso do guaraná em pó, obtido a partir dos bastões o qual é misturado em água e adicionado um pouco de açúcar (BARRETO, 1935); (CRULS, 1948); (EMBRAPA, 1983).

Devido à fama lendária oriunda de suas propriedades estimulantes (CARLINI, 2003) – confirmadas posteriormente – inúmeras indústrias estão utilizando o guaraná para a produção de xaropes, refrigerantes e produtos farmacêuticos (EMBRAPA, 1983).

Segundo Maravalhas (1965), a matéria-prima é a amêndoa descascada e separada da casca (casquilho). Esta parte da semente contém uma substância cerosa que dificilmente permite extratos límpidos. Quando extratos límpidos são conseguidos, após remoção da cera, os polifenóis que compõe a solução e que lhes confere a cor, se polimerizam. Forma-se após algum tempo suspensão fina que tornam turvo os extratos, dificultando o seu emprego em preparações mais elaboradas.

É fato curioso a se notar, que os extratos obtidos de cascas são límpidos, intensamente coloridos e, quando bem processados ao contrário da semente, não turvam.

Há nos comércios inúmeros refrigerantes gaseificados tidos como preparados à base de guaraná e que constituem hoje em dia um “tipo” muito apreciado pelo consumidor. Entretanto, a grande maioria, em certos centros consumidores, não contém guaraná. É simplesmente solução de cafeína e açúcar corada e aromatizada artificialmente (EMBRAPA, 1983).

O Governo Federal, a instância dos produtores amazonenses de guaraná (semente, pó e bastão) e para coibir o abuso de rótulos fictícios, através do Decreto-Lei N° 425 de 14 de abril de 1944, exigiu a incorporação de 0,6% de guaraná nos refrigerantes portadores do nome guaraná. Posteriormente, essa taxa foi diminuída para 0,3% em vista da alegação de que aquele teor não permitiria o preparo de bebidas límpidas dadas à insolubilidade dos outros componentes do guaraná (BRASIL, 1973) e (MARAVALHAS, 1965).

Segundo Brasil (2000), o refrigerante de guaraná deverá conter, obrigatoriamente, uma quantidade mínima de dois centésimos de grama de sementes de guaraná (gênero *Paullinia*), ou seu equivalente em extrato, por cem mililitros de bebida.

### **2.1.7 Caracterização do Guaraná**

Quando se fala em guaraná, associa-se imediatamente a palavra ao nome do refrigerante comercial. No entanto, o guaraná é uma espécie vegetal utilizado em função de suas sementes as quais não apresentam nenhuma semelhança com o guaraná refrigerantes tais como: aroma e sabor (WATZEL, 1937).

Com a regulamentação Técnica para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Refresco, em novembro de 1998, em relação aos padrões para o refrigerante de guaraná, estes deverão enquadrar-se na referida Lei, da qual são aqui transcritos alguns tópicos principais (BRASIL, 1998).

- Definição de refrigerante de guaraná:

É a bebida gaseificada, obtida pela dissolução em água potável, de suco ou extrato vegetal, adicionada de açúcares. O refrigerante deverá ser obrigatoriamente saturado de dióxido de carbono industrialmente puro. Ingredientes básicos: semente de guaraná (gênero *Paullinia*) ou seu equivalente em extrato de guaraná.

-Ingredientes opcionais:

Ao refrigerante de guaraná poderá ser adicionado de outras matérias-primas naturais de frutas ou de vegetais, sob a forma de maceratos, extratos e óleo essenciais, desde que comprovadamente inócuos à saúde humana (TOCCHINI, 1977).

Composição:

- O refrigerante de guaraná deverá obedecer aos limites a seguir fixados (BRASIL, 1998):

Refrigerante de Guaraná	Máximo	Mínimo
Semente de guaraná ou seu equivalente em extrato (mg/100mL)	-	20
Açúcar (quantidade suficiente para)	-	-
Acidez titulável em ácido cítrico (g/100mL)	-	0,1
Cafeína (mg/100mL)	-	0,6
Tanino (mg/100mL)	-	1,0

Pelo Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Refresco, a quantidade mínima de cafeína no refrigerante deve ser o de 0,6 mg/100mL.

O guaraná tem uma media de 409,1 calorias por 100 gramas de substâncias comestíveis (CAMPOS, 1974). Para caracterizar a presença de guaraná no refrigerante, alguns métodos são mencionados, tais como o exame microscópico do sedimento proposto por Lira (1946) e Menezes Júnior (1949), a cromatografia em papel dos taninos do guaraná indicado por Paula & Lachan (1967) e Maravalhas (1965), sugeriu que, um dos métodos de identificação do guaraná nos refrigerantes tidos como preparados a base dessa planta amazônica, consiste na verificação da presença de teobromina e teofilina ao lado da cafeína.

### **2.1.8 Propriedades Farmacológicas e Uso Terapêutico**

Sabe-se que sua ação farmacodinâmica é semelhante aquela do café sendo devida a presença de cafeína e de taninos. O guaraná possui duas a cinco vezes mais cafeína e tanino do que o café (FIGUERÊDO, 1936); (PIRES, 1949).

Nos últimos anos, diversos estudos, na área de farmacologia, vêm sendo realizados com a finalidade de desvendar o mecanismo de ação e os efeitos provocados pelos derivados de xantina (ESPÍNOLA et al., 1997); (MATTEI et al., 1998); (BEMPOMG et al., 1993). Foram observadas várias ações farmacologias de interesse terapêutico e entre elas destacam-se ações sobre o sistema nervoso central e circulatório (HENMAN, 1986). Devido a esse possível efeito estimulante do sistema nervoso central, a droga vegetal guaraná tem sido amplamente utilizada no mercado farmacêutico, o que contribuiu para que fosse colocada entre as drogas oficiais da Farmacopéia Brasileira (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2004).

Por sua ação tônica e adstringente é empregado pela população Amazônica como preventivo e curativo de moléstias intestinais. Assim, o guaraná, seja na forma de pó, extrato ou chá é indicado para esgotamento físico e psíquico, e em associação com outros constituintes para a desnutrição e convalescência, como tônico, estimulante das funções cerebrais, diurético, sedativo (HENMAN, 1982); (DUKE, 1985), antidiarréico (BENIGNI et al., 1962), antitérmico, antineuralgico, antigripal (DEWICK, 1998); (DUKE, 1985), antifadiga (ESPÍNOLA et al., 1997), atividade antidepressiva (OTOBONE et al., 2005). Vários trabalhos farmacológicos foram desenvolvidos, tendo em vista o interesse em se confirmar alguns dos vários efeitos atribuídos à essa planta; alguns foram realizados em animais de laboratório e relataram a baixa toxicidade do guaraná (ESPINOLA et al., 1997); (MATTEI et al., 1998). Albuquerque (1991) destaca ainda as propriedades medicinais do guaraná, propondo-o como revitalizador energético. Rico em cafeína, o guaraná conta também em sua composição com teofilina e teobromina, que justificam suas propriedades terapêuticas, tais como efeito broncoprotetor, ações imunomoduladoras e antiinflamatórias, retardo do envelhecimento e artérias desprovidas de colesterol, permitindo a irrigação sanguínea a todo o organismo, principalmente ao cérebro.

### 2.1.9 Composição Química

Corrêa (1952) assinala que em 1826 o químico Theodor Von Martius realizou a primeira análise do guaraná, levado do Brasil pelo seu irmão, o botânico Carlos Von Martius. Devido a este fato ficou-se sabendo que a massa do guaraná não é um simples suco gomoso. Trata-se de mistura de substância constituída por óleo graxa verde, resina, goma, amida, celulose e matéria cristalina, branca e amarga, idêntica à teína e a cafeína, que ele denominou “guaranina”. Esta substância representava 4,24% do peso seco das sementes.

Decorreram mais de 14 anos até que Berthelot & Dechastelus identificassem a guaranina como sendo cafeína. Ficava assim explicada, definitivamente, a razão de ser o guaraná empregado como alimento de poupança pelos sertanejos de vários estados brasileiros (BRITO, 1930); (PIRES, 1949). Simultaneamente, na Europa notou-se aumento do seu emprego como medicamento tônico.

Os vários estudos químicos levados a efeito a partir de 1840 foram sempre deficientes e quase sempre contraditórios, devido aos diversos sistemas de trabalho seguidos pelos cientistas (MAIA, 1972). Em 1861, a análise realizada por Fournier pouco contribuiu para esclarecer o assunto de vez que se limitou a indicar as substancias já encontradas.

É ainda Corrêa (1952), quem destaca a proposição feita pelo químico Greane, quando concluiu seus estudos sobre guaraná em 1877. Este autor sugere que o nome de ácido guaraná - tânico fosse mudando para ácido paulino - tânico, visto que esta substância presente no guaraná não dá reações iguais às de outros ácidos tânicos. Finalmente, em 1910, Niersteiner concluiu que o principal constituinte da pasta de guaraná não é a cafeína e sim ou outro alcalóide que ele denominou  $\beta$ -guaranina (BRITO, 1930); (MAIA, 1972).

Nas conclusões da tese de doutoramento que na Sorbonne – citada por Corrêa (1952) – o cientista brasileiro Dr. Paulo de B. Carneiro, realizou análises químicas não apenas do “pão” ou “massa” de guaraná, mas também em todas as partes da planta, faz as seguintes afirmações:

“O teor em cafeína da pasta de guaraná é, em media, de 4,8% para o produto indígena e de 4,2% para o produto industrial; a proporção menor de cafeína na pasta industrial resulta da adição de um pouco de amido; a pasta de guaraná não contém qualquer alcalóide; a base análoga à morfina, que Schar julgou ter encontrado nesta droga, não existe. Estes autores foram induzidos em erro pelas reações fenólicas análogas da morfina, mas que na realidade provêm dos taninos do guaraná; todos os órgãos adultos de *Paullinia cupana* H.B.K., que foram examinados encerram cafeína; a teobromina foi encontrada em certos órgãos adultos de *Paullinia cupana* H.B.K., ao lado da cafeína; a nossa *Sapindaceae* é a espécie vegetal atualmente conhecida como a mais rica em cafeína e em teobromina. Verificou também ser de 0,67 gramas o peso médio da semente, e de 0,56 gramas o peso médio da amêndoa e de 0,11 gramas o peso médio do tegumento. Encontrou nas amêndoas 11,02% de umidade, 2,68% de matéria graxa e de 2,07% de cinzas, das quais 1,66% são solúveis. A matéria graxa é amarelo-esverdeada e tem o ponto de fusão a 23°-24°. A cafeína foi encontrada nas seguintes proporções: 4,40% e 2,29% nas amêndoas e no tegumento, respectivamente, em estado seco; 0,17% na casca do caule; 0,19% no lenho do caule; 0,27% no lenho da raiz; 0,38% nas folhas e 1,74% na casca da raiz. Quanto a teobromina, dosou 0,98% na casca do caule; 1,20% nas folhas e 1,54% nas flores, de onde concluiu “ser o guaraná a espécie vegetal conhecida, mais rica em cafeína e em teobromina”.

Maravalhas (1965) observou que as substâncias corantes da casca são da classe dos flavonóis e principalmente, polifenóis oxidados. As amêndoas, porém, são incolores quando frescas. Com o envelhecimento e a secagem, um mecanismo enzimático, polifenol-oxidases, age lentamente colorindo a amêndoa de cor de chocolate. As amêndoas frescas, quando pulverizadas em presença do ar, tornam-se imediatamente coloridas.

A literatura sobre o guaraná relata porcentagem de cafeína até 5,8% nos bastões (MARAVALHAS, 1965). Em análises, com material procedente de Maués, encontrou de 2,7% a 3,5% de cafeína na amêndoa e 2,7% a 3,0% na casca. A quantidade de cafeína no guaraná em pó pode variar de acordo com a procedência da matéria-prima (região de plantio), o método de cultivo, presença de contaminantes químicos e métodos de secagem (ASHIHARA et al., 2001). Os materiais colhidos nos arredores de Manaus acusaram as mesmas porcentagens. Análises da casca efetuadas por outros laboratórios revelaram taxas de cafeína superiores a 2,5%. Esse teor relativamente baixo nas amêndoas, conclui Maravalhas (1965), é provavelmente devido à maior intensidade de torrefação, que se pratica com a finalidade de maior conservação.

Maia (1972) cita que Peckolt em 1866, analisou a pasta do guaraná (amêndoas trituradas) encontrando os seguintes resultados:

Descrição	%	Descrição	%
Celulose	47,12	Amido	9,35
Resina vermelha	7,80	Água	7,65
Pectina, ácido málico e dextrina	7,40	Ácido guaraná-tânico	5,90
Óleo fixo	4,55	Cafeína	4,28
Ácido piro-guaraná	2,75	Matérias albuminóides	1,75
Matéria corante vermelho	1,52	Glicose	0,77
Saponina	0,06		

Le Coint dá a seguinte análise do guaranazeiro (MAIA, 1972):

Sementes	de 4,3 a 4,7% de cafeína
Folhas secas	0,38% de cafeína 1,20% de teobromina
Raízes (Parte central) (Casca)	0,27% de cafeína 0,17% de cafeína 0,98% de teobromina
Caule (Madeira) (Casca)	0,19% de cafeína 0,17% de cafeína 0,98% de teobromina
Flores	1,54% de teobromina
Pedúnculo	0,36% de teobromina

Na investigação feita por Roberto Moraes, os resultados encontrados foram (MAIA, 1972):

Amostra	Umidade%	Cafeína%	
		Matéria bruta	Matéria seca
Casca	11,89	1,24	1,40
Amêndoa	9,90	3,65	4,05
Semente total	10,65	2,73	3,06

Os dados abaixo comparam o teor de cafeína e teobromina nas principais fontes naturais destas bases xânticas (MAIA, 1972).

Amostras	Cafeína %	Teobromina %
Café	0,8 – 1,3	-
Cacau	0,4	1,04
Mate	0,3 – 1,5	-
Cola	2,08	Traços
Chá	2,42 – 4,89	-
Guaraná	4,3 – 4,7	1,20

Segundo Walker et. al., (2000) outros ensaios realizados apresentaram diferentes teores de cafeína em amostras base seca, bem como cafeína, teobromina e teofilina de produtos líquidos prontos para servir.

Produtos	Cafeína % (base seca)	Produto Líquido (para servir)	Cafeína (mg)	Teobromina (mg)	Teofilina (mg)
Guaraná	3,5 – 7,0	Guaraná	30-40	0,3	0,5
Café	1,0 – 2,0	Café	90-150	0	NA
Chá	2,5 – 4,0	Chá	30 – 70	NA	3 – 4
Cacau	0,07 – 0,39	Cacau	NA	250	NA
Cola	2,5 – 3,5	Refrigerante	30 – 55	0	0

NA: Não avaliado.

## 2.2 Cafeína

### 2.2.1 Uso

A cafeína foi isolada em 1820 e até os dias de hoje tem sido usada terapeuticamente no tratamento de diversas enfermidades. É um alcalóide encontrado em uma grande variedade de bebidas (café, chás, refrigerantes, etc.). É um derivado metilado de bases purínicas estruturalmente identificadas como 1,3,7-trimetilxantina, é considerada como a substância psicoativa, o qual está contido em várias bebidas não alcoólicas mais consumida em todo o mundo (SIMÕES, 1999), por pessoas de todas as idades, independentemente do sexo e da localização geográfica (COUPER-SMARTT et al., 1984); (LEONARD et al., 1984); (STAVRIC, 1988).

O consumo mundial de cafeína é estimado em mais de 120.000 toneladas por ano (JAMES, 1991). Quando ingerida atua como diurética (GENNARO et al., 1992), estimulante do sistema nervoso central (BUNKER & McWILLIAMS, 1979); (GENNARO et al. 1992); (ROBERTS & BARONE, 1983); (STEPHENSON, 1977) e cardiovascular (GENNARO et al., 1992), melhorando os estados da fadiga e da atenção. As pessoas mostram menos sonolência aumentando um fluxo de idéias mais rápidas e claras (NISHITANI, et al., 2004); (RODRIGUEZ, et al., 2007). É usada como analéptica do sistema circulatório e respiratório, sendo empregada em casos de apnéia infantil. A cafeína é utilizada ainda no tratamento de cefaléias e enxaquecas, neuralgia, arteriosclerose, cólicas menstruais, perda de peso, para facilitar a diurese, entre outras (HENMAN, 1982). Com menor frequência é empregada no tratamento de acne e de outras doenças da pele (ROBERTS & BARONE, 1983). Devido às suas propriedades estimulantes também é bastante utilizada como “doping” por atletas (DELBEKE et al., 1985). A relação entre o consumo de cafeína e o possível desenvolvimento de algumas doenças tem despertado há muito tempo o interesse de cientistas (IFT, 1988). Apesar de não existirem evidências de que a ingestão de cafeína em doses moderadas (em torno de 300mg/ dia) seja prejudicial à saúde de um indivíduo normal, esta substância vem sendo continuamente estudada, pois ainda persistem muitas dúvidas e controvérsias quanto aos seus efeitos adversos na saúde (IFIC, 1998).

A cafeína é encontrada numa grande variedade de produtos vendidos com ou sem receita, usados como analgésicos, diuréticos, controladores de peso, preparados para aliviar alergias e estimulantes (ROBERTS & BARONE, 1983).

De acordo com a Food and Drug Administration, aproximadamente 1.000 medicamentos prescritíveis e mais 2.000 medicamentos isentos de receituário (venda livre no balcão) contêm cafeína. Os medicamentos de receituário típico contêm na ordem de 30 a 100 miligramas de cafeína por tablete ou cápsula. Os níveis de cafeína nos produtos de venda livre também variam amplamente (tipicamente de 15 a 200 miligramas por tablete ou cápsula) e dependem não só do tipo de produto, mas da marca do fabricante envolvido (MILES, 1983); (ROBERTS & BARONE, 1983).

O consumo de cafeína deve-se primariamente a ingestão de café, guaraná, produtos de chocolate, chá e outras fontes como medicamentos (ROBERTS & BARONE, 1983); (ZOUMAS et al. 1980).

## **2.2.2 Aspectos Farmacocinéticos**

### **2.2.2.1 Considerações Gerais**

A cafeína, embora não apresente qualquer valor nutricional, tem sido considerado por alguns pesquisadores um ergogênico nutricional, por estar presente em vários produtos comerciais consumidos diariamente (ALTIMARI et al., 2001); (GRAHAM, 2001); (SPRIET & GIBALA, 2004). Assim sendo, a cafeína tem sido utilizada com grande frequência como substância ergogênica de forma aguda, previamente à realização de exercícios físicos, como o intuito de protelar a fadiga e, conseqüentemente, aprimorar o desempenho, sobretudo em atividades de média e longa duração (ALTIMARI et al., 2001); (BRAGA & ALVES, 2000); (GRAHAM et al., 2000); (GRAHAM, 1994); (JUHN, 2003); (PALUSKA, 2003).

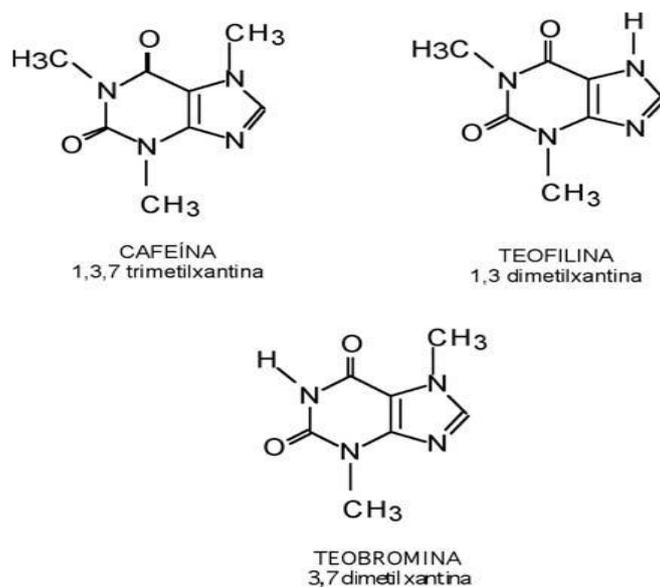
Até final do ano de 2003 a cafeína aparecia na lista de substâncias proibidas pela Agência Mundial Antidoping (WADA), na classe de estimulantes (A). Mais recentemente, a WADA retirou a cafeína da lista de substâncias proibida, incluindo esta em uma lista de substâncias que serão monitoradas a partir de 2004 (WADA, 2004).

A relação entre o consumo de cafeína e o possível desenvolvimento de algumas doenças tem despertado, há muito tempo, o interesse de pesquisadores. Embora muitas pesquisas tenham sido feitas, ainda não existem evidências de que quantidades moderadas de cafeína (aproximadamente 300mg/ dia) sejam prejudiciais à saúde de um indivíduo normal (FINNEGAN, 2003). No entanto, um consumo superior a 400mg/dia pode levar ao chamado “cafeinismo”, cujos sintomas mais comuns são ansiedade, inquietação, irritabilidade, tremores, perda de apetite, tensão muscular e palpitações no coração (BARONE, et al., 1993); (COUPER-SMARTT et al., 1989); (FINNEGAN, 2003); (JAMES, 1991); (McKIM et al., 1993); (STAVRIC, 1988); (VICTOR et al., 1981); (VON BORSTEL, 1983), incluem também ruídos no ouvido, diarreia, delírios, aceleração da respiração (EATON, 1989). A dose letal de cafeína é de 10 gramas, quantidade contida em aproximadamente 100 xícaras de café (EATON, 1989).

Tendo em vista que a cafeína é uma das medicações de grande utilização no mundo, o resultado de estudos acerca das implicações relativas à saúde decorrentes do seu uso é de interesse para consumidores de alimento, bebidas e medicamentos (ROBERTS & BARONE, 1983). Existe também um grande interesse em identificar as fontes e níveis de cafeína em alimentos comercialmente disponíveis, pois os limites de tolerância variam com os indivíduos e, deste modo, torna-se necessário o conhecimento da quantidade contida nos produtos que estes consomem.

Também, estudos recentes demonstram sua atividade teratogênica em ratos, o que levou a United State of Food and Drug Administration a sugerir, em 1980, que mulheres grávidas diminuam o consumo desta substância até que novos estudos estabeleçam a relevância para o se humano (GENNARO et al., 1992).

A cafeína (1,3,7 – trimetilxantina) é um alcalóide farmacologicamente ativo pertence ao grupo das metilxantinas (BARONE & ROBERTS, 1984); (COUPER-SMART et al., 1984); (McKIM et al., 1993), quimicamente relacionada com outras xantinas: teofilina (1,3 – dimetilxantina) e teobromina (3,7 – dimetilxantina) que se diferenciam pela potência de suas ações farmacológicas sobre o sistema nervoso central (GEORGE, 2000). É encontrada em mais de 63 espécies de plantas, associada a outros dois compostos do mesmo grupo: a teofilina e teobromina. Figura 5.



**Figura 5.** Estrutura química da cafeína e metilxantinas relacionadas.  
Fonte: Revista Portuguesa de Ciências do Desporto, 2005.

Neste sentido, a cafeína é uma substância capaz de excitar ou restaurar as funções cerebrais e bulbares sem, contudo, ser considerada uma droga terapêutica, sendo comumente utilizada e livremente comercializada, por apresentar uma baixa capacidade de indução à dependência (BUCCI, 2000); (SINCLAIR & GEIGER, 2000).

A cafeína tem sido utilizada como substância ergogênica, de forma aguda, previamente à realização de exercícios físicos, particularmente em atividades de media e longa duração (SINCLAIR & GEIGER, 2000); (SPRIET, 1995); (SPRIET & GIBALA, 2004); (TARNOPOLSKY, 1994). Ela tem sido considerada um ergogênico nutricional por estar presente em vários produtos consumidos diariamente, como o guaraná, o mate, o chocolate, o café, alguns refrigerantes e chás, embora não apresente qualquer valor nutricional (ALTIMARI et al., 2001); (GRAHAM, 2001); (SPRIET & GIBALA, 2004). Café, chá, produtos de chocolate e alguns refrigerantes são considerados mundialmente como as principais fontes de cafeína na dieta (COUPER-SMARTT et al., 1984); (LEONARD, 1987); (BRASIL, 1982); (PINTO, 1998). A cafeína também vem sendo classificada como uma droga, pois é caracterizada por efeitos farmacológicos de ação estimulante, podendo ser encontrada em alguns medicamentos como agente para antagonizar o efeito calmante de certos fármacos (CLARKSON, 1993); (GEORGE, 2000); (SINCLAIR & GEIGER, 2000).

A utilização indiscriminada de cafeína por parte de atletas, no início da década de 1980, com o objetivo de melhorar o desempenho, fez com que esta substância fosse incluída na lista de substância proibida pelo Comitê Olímpico Internacional (SINCLAIR & GEIGER, 2000); (SPRIET, 1995). Contudo, o uso de cafeína somente tornou-se evidente a partir dos Jogos Olímpicos de Los Angeles (1984), quando alguns membros da equipe de ciclismo dos Estados Unidos declararam publicamente terem usado esse alcalóide como estimulante durante as competições (ROGERS, 1985).

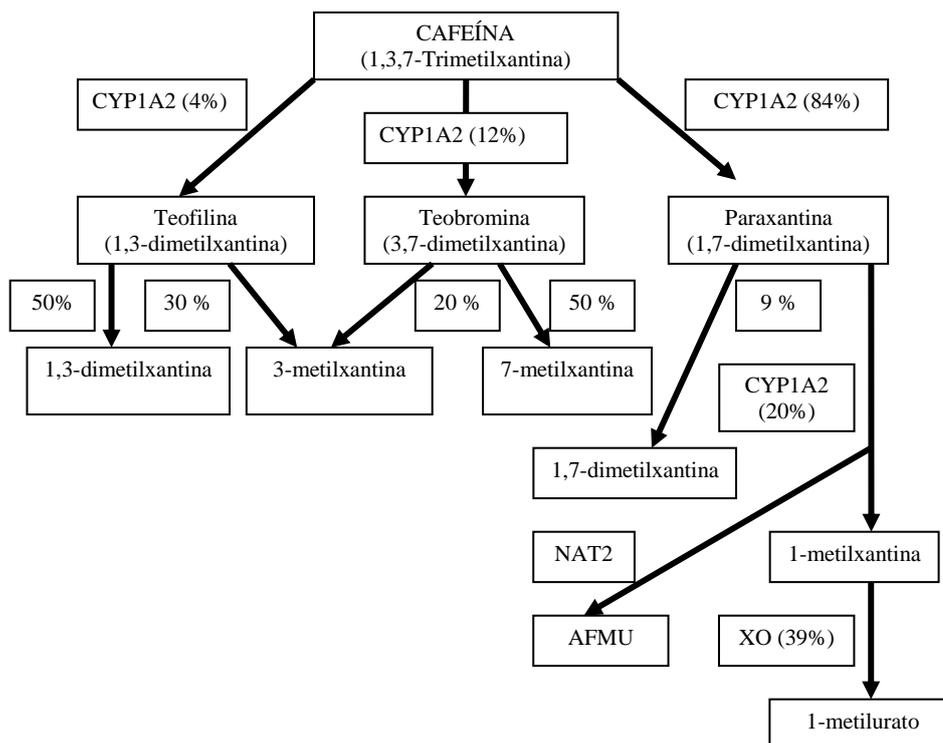
O uso dessa substância tem se tornado mais comum nos últimos anos, particularmente por atletas que disputam provas de ciclismo e corredores de média e longa distância (ALTIMARI et al., 2000); (JEUKENDRUP & MARTIN, 2001); (JUHN, 2002).

#### **2.2.2.2 Absorção, Metabolização e Excreção**

A cafeína é moderadamente solúvel na água, sendo, no entanto suficientemente hidrofóbica ao ponto de passar facilmente através de membranas biológicas, provavelmente na maioria das vezes, por difusão passiva (VON BORSTEL, 1983). A cafeína é absorvida rapidamente e eficientemente, através do trato gastrointestinal, após administração oral. A mesma parece não afetar as funções gastrointestinais quando ingerida de forma conjugada a diferentes soluções líquidas, como o carboidrato e a água (SINCLAIR & GEIGER, 2000); (VAN NIEUWENHOVEN et al., 2000). Esta substância pode alcançar o pico de concentração máxima na corrente sanguínea entre 15 a 120 minutos após a sua ingestão (SINCLAIR & GEIGER, 2000). A administração desta substância pode ser feita de diversas formas, dentre as quais destacamos a administração intraperitoneal, injeções subcutânea ou intramuscular e também através da aplicação de supositórios (SINCLAIR & GEIGER, 2000); (WANG, 1998). Sua ação pode atingir todos os tecidos, pois o seu transporte é feito via corrente sanguínea, sendo posteriormente degradada e excretada pela urina na forma de co-produtos (CLARKSON, 1993); (SINCLAIR & GEIGER, 2000); (SPRIET, 1995).

O metabolismo da cafeína ocorre em maior proporção no fígado, onde existe uma maior concentração de citocromo P450 1A2, enzima responsável pelo metabolismo desta substância (KALOW & TANG, 1993); (SINCLAIR & GEIGER, 2000).

A metabolização começa com a remoção do grupo metil 1 e 7, catalizada pelo citocromo P450 1A2, o que possibilita a formação de três grupos metilxantina (FERDHOLM, 1985). Em humanos, a maior parte do metabolismo da cafeína ocorre pela mudança na posição do grupo metil 1,3,7 possibilitando uma metabolização com predominância (84%) na forma de paraxantina (1,7-dimetilxantina), seguida de teofilina (1,3-dimetilxantina) e de teobromina (3,7-dimetilxantina), sendo esses dois últimos metabolizados em menor quantidade (FERDHOLM, 1985); (KALOW & TANG, 1993). Descrito na Figura 6. Os três metabólitos têm demonstrado ser ativos biologicamente (FERDHOLM, 1985); (SINCLAIR & GEIGER, 2000).



**Figura 6.** Metabolismo da cafeína em humanos. (Os números dentro dos parênteses são os percentuais do composto metabolizado (CYP1A2-CITOCROMO P450; NAT2-N-acetiltransferase; XO-xantina oxidase; AFMU-5-acetilamina-6-formilamina-3-metiluracil).  
Fonte: Adaptada de Sinclair & Geiger, 1976.

Os possíveis passos iniciais na biotransformação da cafeína em tecido mamífero são (1) remoção por oxidase de outro dos substitutivos metílicos para formar uma das dimetilxantinas – teofilina (1,3-dimetilxantina), teobromina (3,7-dimetilxantina) ou paraxantina (1,7-dimetilxantina), (2) oxidação na posição “8” da estrutura do anel purínico para produzir 1,3,7-ácido trimetilúrico ou (3) hidratação e união anelar entre as posições 8 e 9 dando 6-amino-5-(N-formilmetilamino) 1,3-dimetiluracil (CORNISH & CHRISTMAN, 1957); (VON BORSTEL, 1983).

Todas estas reações parecem ser ativas de forma simultânea na maior parte dos mamíferos. No entanto, a via mais favorável varia de espécie para espécie. Desta forma, nos humanos, 70% de uma dose de cafeína é inicialmente convertida em paraxantina e 25% adicionais é também desmetilada para formar a teofilina e a teobromina; menos de 5% é biotransformado inicialmente pelas duas reações que não envolvem a desmetilização. A teofilina é o metabólito inicial predominante em duas espécies não humanas de primatas, o macaco do gênero *Macaca* e o babuíno, e também em beagles (VON BORSTEL, 1983). Nos camundongos e ratos a teobromina é o metabólito inicial predominante, apesar de nesses roedores, especialmente o rato, as vias que não impliquem em desmetilização respondem por uma porcentagem mais substancial de biotransformação inicial do que em outras espécies. Finalmente, o coelho, tal como o homem, inicialmente converte a maior parte da dose ministrada da cafeína em paraxantina (VON BORSTEL, 1983).

Os metabólitos iniciais da cafeína são subseqüente biotransformados de novo, especialmente por via de várias combinações das três reações enzimáticas iniciais mencionadas – desmetilização, oxidação para formar derivados metilados do ácido úrico e aberturas anelares para formar derivados do diaminouracil.

Estes metabólitos secundários são removidos com relativa eficiência da circulação, de modo que, em seguida são geralmente expostas as concentrações significativas exclusivamente de cafeína em si mesma, ou das três dimetilxantinas, teofilina, teobromina e paraxantina (VON BORSTEL, 1983).

Pode ser importante analisar as diferenças entre essas espécies quando se interpretarem estudos acerca da farmacologia ou toxicologia comparativa da cafeína. Por exemplo, a teofilina e paraxantina podem ser farmacologicamente mais ativas do que a cafeína, enquanto a teobromina tende a ser menos potente. A extensão na qual as dimetilxantinas contribuem para os efeitos farmacológicos da cafeína podem ser, desta forma, muito diferentes entre espécies comuns de animais de laboratório (VON BORSTEL, 1983).

Cornish & Christman (1957) administraram para 2 indivíduos, 1 grama de teobromina, teofilina e cafeína. Após 48 horas, 63% da teobromina, 77% da teofilina e 66% da cafeína, foram excretadas na urina, na forma de metilxantinas e ácido metilúrico. Neste experimento eles constataram na urina:

- 7 metilxantina, 3 metilxantina, teobromina e ácido 7 metilúrico, oriundos da ingestão de teobromina (BONATI et al., 1984); (CORNISH & CHRISTMAN, 1957).

- 3 metilxantina, teofilina, ácido 1 metilúrico e ácido 1,3 dimetilúrico, oriundos da ingestão de teofilina.

- 7 metilxantina, ácido 1 metilúrico, ácido 1,3 dimetilúrico, cafeína, 1 metilxantina e 1,7 dimetilxantina, oriundos da ingestão de cafeína.

Um índice útil na velocidade de biotransformação da cafeína e sua eliminação é sua meia vida plasmática, isto é, o tempo necessário para os níveis de cafeína no plasma se reduzir em 50% como resultado de biotransformação e excreção.

A meia vida da cafeína no plasma varia consideravelmente dentre as espécies animais (VON BORSTEL, 1983).

Axelrod & Reichental (1953) forneceram 500 miligramas de cafeína para 3 indivíduos, intravenosamente, coletando a urina 24 horas após a administração. Somente 0,5 a 1,5% da cafeína administrada foi excretada inalterada, indicando que o fármaco teve quase completa biotransformação no corpo. Estes mesmos autores encontraram para a cafeína meia vida biológica de 3,5 horas. Verificaram ainda que, não existiu acumulação do fármaco, após a sua administração.

Warren (1969) estudando a identificação do metabólito da cafeína, em voluntários, concluiu que:

- a) Os consumidores habituais de bebidas contendo cafeína, requerem cerca de 7 dias de abstinência, para a completa eliminação da cafeína no sangue.
- b) A administração de 500 mg de cafeína oralmente, leva ao aparecimento desta substância e paraxantina nos eritrócitos e plasma dentro de 3 horas.
- c) A cafeína e paraxantina desaparecem do sangue em 24 horas. Por este resultado, parece que o primeiro ponto na biotransformação da cafeína no homem é a remoção do grupo metil da posição 3 originando a formação de 1-7 dimetilxantina (paraxantina).

Tarka et al., (1983) citam que a cinética das metilxantinas tem sido investigada com referência a sua influência na dieta. Este autor menciona que Callahan et al., encontraram de 10 a 40% da dose de cafeína administrada é excretada como 5 acetilamino - 6 amino - 3 metiluracila.

Burg & Werner (1972) estudaram a distribuição da cafeína em camundongos com finalidade de determinar a concentração dos metabólitos da cafeína administrada. Estes autores baseando-se no trabalho de Schanker indicam que a cafeína é pouco absorvida através do estômago de ratos.

Burg & Stein (1972) relatam que após administrarem por longo prazo a quantidade de 5 e 25 mg/Kg de cafeína para ratos, verificaram que a 1-metildesmetilase, não é induzida nem inibida por altas concentrações desta substância. Estes autores, trabalhando com cafeína marcada, verificaram a presença de radioatividade fecal em animais tratados com esta substância. As fezes foram consideradas por eles como via secundária de excreção da cafeína.

A rapidez da eliminação da cafeína pode também variar marcadamente dentro de determinada espécie, incluindo o homem, em função da idade, situação endócrina, doenças ou a presença de outras drogas (VON BORSTEL, 1983).

O fígado de fetos e infantes tem uma capacidade limitada de biotransformar a cafeína; sua meia vida é de 3 a 4 dias, e mais de 80% de uma dose ministrada é excretada sem transformação enzimática (VON BORSTEL, 1983). Este ritmo extremamente lento na eliminação de cafeína em recém-nascidos é certamente importante a ser levado em consideração quando a cafeína é usada para o tratamento da apnéia em prematuros. Também, tendo em vista que a cafeína é um ingrediente tão comum na dieta e na terapêutica e talvez também porque a biotransformação da cafeína é inibida durante as fases finais da gravidez o recém nascido típico Norte Americano nasce com uma concentração de cafeína no plasma do cordão umbilical de 0,5 – 2 mg/mL – semelhante a que é encontrada no sangue de adultos depois do consumo de uma ou duas xícaras de café – e vários dias são necessários para que esta cafeína desapareça (VON BORSTEL, 1983).

Aproximadamente na idade de 3 – 4 meses, a meia vida da cafeína já baixa para aproximadamente 14 horas, e baixa ainda mais para 2,6 horas pela idade de 5 a 6 meses (VON BORSTEL, 1983). A meia vida da cafeína parece permanecer estática entre 2 a 3 horas pelo menos na faixa de 6 a 13 anos. Em adultos saudáveis, quer jovens ou idosos, a meia vida da cafeína é de 5 a 6 anos (VON BORSTEL, 1983).

Na maior parte das condições não parece haver diferenças sensíveis entre machos e fêmeas na sua capacidade de eliminar a cafeína; no entanto, no segundo e terceiro trimestre da gravidez, a meia vida da cafeína é aumentada pelo triplo, para aproximadamente 18 horas. Isto rapidamente reverte a valores basais depois do parto e parece estar relacionado com alterações hormonais que acompanham a gravidez, em que as mulheres que usam esteróides anticoncepcionais orais também apresentam uma meia vida plasmática para a cafeína (VON BORSTEL, 1983).

O fumo de cigarro é associado com um decréscimo da meia vida da cafeína para 3 ou 4 horas (PARSONS & NEIMS, 1978); (VON BORSTEL, 1983). Esta capacidade aumentada da eliminação de cafeína provavelmente reflete uma indução das enzimas hepáticas responsáveis pela biotransformação da cafeína como resultado da exposição prolongada a certos componentes da fumaça de cigarro (VON BORSTEL, 1983). O tratamento de ratos com uma categoria desses compostos tais como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos estimulam em alto grau a biotransformação e excreção da cafeína (CHAIT & GRIFFITHS, 1983); (VON BORSTEL, 1983).

### 2.2.3 Aspectos farmacodinâmicos

Quando se consideram os resultados de estudos toxicológicos acerca da cafeína ou as interações moleculares subjacentes a seus efeitos farmacológicos, é muito importante levar em conta as dosagens, os níveis de cafeína nos tecidos e a relação entre o nível dos tecidos e a resposta fisiológica (VON BORSTEL, 1983).

Uma xícara de café contém aproximadamente 70 – 140 miligramas de cafeína e em uma pessoa de 70 quilos de peso, a dose é de 1 – 2 miligramas/quilos; isto dá origem a uma concentração plasmática máxima de cafeína de 5 – 10 micromiligrama. Na maior parte das pessoas, os efeitos de tais níveis são restritos a um aumento na latência do sono, ou seja, o tempo necessário para adormecer depois de ir deitar-se, e um aumento do estado de alerta durante os períodos de fadiga e aborrecimento (VON BORSTEL, 1983).

Doses de 3 – 5 miligramas/quilo resultam em um nível máximo de cafeína no plasma de 15 – 30 micromiligrama; nestes níveis, segundo Von Borstel (1983), os efeitos documentados incluem leve ansiedade especialmente em pessoas que normalmente quase não consomem cafeína, estímulos respiratórios, efeitos cardiovasculares, diurese e aumento da secreção gástrica. A magnitude destes efeitos depende de vários fatores, sendo o mais significativo a história prévia de consumo de cafeína, levando em consideração que se desenvolve tolerância a vários de seus efeitos farmacológicos (VON BORSTEL, 1983). As concentrações terapêuticas para apnéia em bebês prematuros estão na faixa de 50 micromiligrama. A toxicidade aguda começa a aparecer quando os níveis se situam entre 150 a 200 micromiligramas.

Os sintomas incluem séria irrequietude e excitação conduzindo a leve delírio, tensão muscular, espasmos e distúrbios cardiovasculares tais como taquicardia (VON BORSTEL, 1983). Concentrações letais de cafeína no plasma estão na ordem de 0,5 a 1 micromilograma. Seria necessário o consumo de aproximadamente 75 xícaras de café forte tomadas durante o período de aproximadamente 30 minutos para atingir tais níveis, de modo a que mortes em humanos devido ao consumo agudo de bebidas contendo cafeína são bastante raras (VON BORSTEL, 1983).

#### **2.2.4 Mecanismos de Ação e Desempenho**

Acredita-se que a cafeína possua mecanismos de ação central e periférica que podem desencadear relevantes alterações metabólicas e fisiológicas, as quais melhorariam o desempenho (FILLMORE et al., 1999); (GRAHAM et al., 1998); (GRAHAM & SPRIET, 1991); (GRAHAM & SPRIET, 1995); (SPRIET, 1995). Dessa forma, têm sido propostas pelo menos duas teorias que podem tentar explicar o efeito ergogênico da cafeína durante o exercício físico de média e longa duração (GRAHAM et al., 1994); (PALUSKA, 2003); (SPRIET, 1995); (TARNOPOLSKY, 1994). A primeira envolve o efeito direto da cafeína em alguma porção do sistema nervoso central, afetando a percepção subjetiva de esforço e/ou a propagação dos sinais neurais entre o cérebro e a junção neuromuscular (GEORGE, 2000); (SPRIET, 1995); (YAMADA, 1989). Contudo, essa hipótese é ainda extremamente especulativa, haja vista as grandes limitações que envolvem esse tipo de investigação.

A segunda teoria diz respeito ao aumento na oxidação das gorduras e redução na oxidação de carboidratos (CHO). Acredita-se que a cafeína poderia gerar um aumento na mobilização dos ácidos graxos livres dos tecidos e/ou nos estoques intramusculares (YAMADA, 1989). Esse efeito, supostamente, ocorreria de maneira indireta por meio do aumento na produção de catecolaminas na circulação, particularmente a epinefrina, ou diretamente antagonizando os receptores de adenosina (DAVIS, et al., 2003), um importante regulador do metabolismo lipídico, que normalmente inibem a mobilização dos ácidos graxos livres (AGLs), aumentando a oxidação da gordura muscular e reduzindo a oxidação de carboidratos (COSTILL, 1978); (GRAHAM et al., 1994); (SPRIET, 1995). Bellet et al., (1968) foram os primeiros a documentar o efeito positivo da cafeína sobre o metabolismo, estimulando a mobilização de gorduras dos ácidos graxos livres. Tal efeito, associado à economia na depleção de glicogênio muscular, acarretou aprimoramento do desempenho nos exercícios prolongados, sendo posteriormente confirmando por outros estudos (COSTILL et al., 1978); (ESSIG et al., 1980); (IVY et al., 1979); (POWERS et al., 1983). A partir daí muitos foram os estudos que procuraram investigar os possíveis efeitos deste ergogênico sobre o desempenho em exercícios de média e longa duração.

### **2.2.5 Efeitos Colaterais**

O modelo atual de esporte tem contribuído para uma busca incessante de resultados, o que tem levado atletas à utilização de diferentes substâncias, desconsiderando os conceitos éticos e de saúde. Ao que parece, o consumo de cafeína objetivando a melhoria do desempenho, tem sido de forma indiscriminada e sem os cuidados necessários (ALTIMARI, 2005).

A ingestão de altas doses de cafeína (10 – 15 mg/Kg de peso corporal) não é recomendada, pois os níveis plasmáticos de cafeína podem alcançar valores tóxicos de até 200 micromiligramas (FERDHOLM, 1985). Os efeitos colaterais causados pela ingestão de cafeína ocorrem em maior proporção em pessoas suscetíveis e que utilizam essa substância em excesso (CLARKSON, 1993); (SINCLAIR & GEIGER, 2000). A cafeína pode prejudicar a estabilidade de membros superiores, induzindo-os a trepidez e tremor, resultantes da tensão muscular crônica (CLARKSON, 1993); (SPRIET, 1995), e ainda induzir a insônia, nervosismo, irritabilidade, ansiedade, náuseas e a desconforto gastrointestinal (JACOBSON & KULLING, 1989); (STEPHENSON, 1977). Os problemas estomacais podem ser agravados por quem já apresenta tendência para gastrite ou úlcera, principalmente quando ingerido em jejum (CLARKSON, 1993); (SINCLAIR & GEIGER, 2000). Todas as possibilidades citadas anteriormente devem ser consideradas quando da utilização desta substância por parte de atletas, pois tais ocorrências poderão influenciar negativamente o desempenho atlético (ALTIMARI et al., 2001).

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1 Geral**

O uso do guaraná foi muito difundido desde a chegada dos primeiros colonizadores, sendo hoje utilizado em todo o Brasil, sob a forma de refrigerantes gaseificados, xarope, pós e comprimidos. No exterior, o guaraná vem despertando interesse especialmente do Japão, Estados Unidos e países europeus (Itália, Espanha, Inglaterra) que têm incluídos este produto em suas importações (BRANDT, 1985); (MEDRI et al., 1980).

Este trabalho objetiva avaliar métodos de extração de cafeína do epicarpo lenhoso (casquilho) de sementes de guaraná (*Paullinia cupana*) utilizando solventes de baixo custo e reduzido ou nenhum teor alcoólico, uma barreira de exportação para países que exigem comprar extrato de guaraná com menor volume ou ausência de álcool no produto.

#### **3.2 Específico**

Realizar extrações de cafeína a partir do epicarpo lenhoso de sementes desidratadas de guaraná (*Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis*) sob diferentes condições de tempo, temperatura, solventes e pH. As variáveis consideradas nos procedimentos de extração são: tempo em 1, 3, 6 e 12 h; temperatura em 28°C e 100°C; solventes em H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O (40%) + etanol (60%) e H<sub>2</sub>O (60%) + etanol (40%); pH em 5,1; 5,6; 6,3 e 7,5.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 Modelo de Estudo**

Trata-se de um estudo experimental da análise de variância e de comparação de blocos inteiramente ao acaso de extração de cafeína utilizando substâncias de baixa toxicidade no manuseio, custo financeiro e fácil aquisição, não necessitando documentos de órgãos de fiscalização para a aquisição, tais como, água potável de poço e álcool comercial a 96°GL. A obtenção dos extratos visa à utilização de casquilho de guaraná que tem pouco valor comercial e que possibilita pelo processamento, a obtenção de extrato com maior quantidade de cafeína.

### **4.2 Amostras dos casquilhos**

As sementes desidratadas de guaraná com aproximadamente 3% de umidade, foram adquiridas de uma Cooperativa Agrofrutíferas dos Produtores de Uruará – AGROFRUT, localizada na 9ª sub-região (Baixo Amazonas) entre os meses de outubro de 2009 a janeiro 2010, correspondendo ao período da safra.

### 4.3 Colheita

A colheita é efetuada manualmente, utilizando-se tesoura para corte, coletando-se cachos que se apresentam com pelo menos 50% dos frutos na forma aberta. Os não abertos irão abrir durante o processo de fermentação. Não é recomendável catar os frutos estragados caídos no chão, nem os misturar aos bons, para que estes não sejam prejudicados.

A forma de colher varia muito em função da qualidade de mão-de-obra disponível, do custo da diária ou do balaio (chamado de paneiro no Amazonas) de 40 Kg de frutos abertos colhidos, da concentração maior ou menor de pés com frutos maduros e do próprio produtor.

O guaraná apresenta uma desuniformidade muito grande de maturação dos frutos entre pés, e de tamanho de sementes, isto em razão dele não ser uma planta híbrida ou uma planta clonada.

Os cachos são amontoados em galpões, durante dois a três dias para sofrer leve fermentação e amolecimento das cascas (epicarpo), facilitando o despulpamento. A separação das sementes da casca e do arilo é através de máquinas despulpadeiras. É realizada a peneiragem e lavagem em água corrente, secagem por 10 a 12 horas ao sol para retirada do ráquis, pecíolo primário. A torrefação das sementes é em fornos de chapa que são usualmente utilizados na fabricação de farinha, até o ponto de estalar, com uma umidade entre 8 a 10 por cento, apresentando a coloração marrom. A classificação e seleção das sementes são em peneiras apropriadas, sendo selecionadas pelo critério de coloração, o qual indica se a semente passou do ponto de torrefação ideal ou não, descartando-se as sementes rejeitadas. O transporte das ramas da fazenda até a fábrica é em sacos de aniagem.

#### **4.4 Pós-colheita**

Os frutos colhidos são despejados no piso do galpão, onde ficam amontoados livremente, por um período de 3 a 5 dias, para o processo de fermentação. Outra forma, ao invés de amontoados é deixar em sacas de ráfia pelo mesmo período.

#### **4.5 Despoldamento**

É o processo de separar a semente do fruto já fermentado. Neste caso, a casca e o arilo (parte branca que envolve a semente) são separados da semente.

É realizado em despoldadeiras acionados manualmente ou por motor. A maioria deles é manual, fornecidos pelos intermediários que recebem em quilograma de sementes e ficam com o comprometimento da compra futura da safra.

##### **4.5.1 Características dos despoldadores utilizados**

Alguns são de madeira, outros metálicos. Ambos se compõem de uma caixa de recepção em forma trapezoidal invertida, por onde são introduzidos os frutos. Dentro desta caixa, perfurada por pregos (com rugosidades como um ralador caseiro), existe um rolo de madeira envolvido por uma lâmina de alumínio ou de lata comum. Encaixada no rolo, há uma manivela, que é girada manualmente, enquanto se colocam os frutos na caixa de recepção. Quando os frutos passam entre o rolo e a caixa de recepção, caem no chão através de uma abertura tipo canaleta.

O despoldador possui uma base com quatro pés de madeira. No motorizado, a diferença é a existência de um sistema de correias que liga o motor com o rolo, movimentando-o automaticamente.

Os despoldadores podem provocar perdas de 20 a 30%. Estas perdas ocorrem em função do espaço entre a caixa de recepção e o rolo, das ranhuras da lamina que envolve o rolo, do operador, das escoriações, das quebras de sementes e das sementes não despoldadas.

Alguns produtores, para recuperar parte das perdas, fazem um repasse das sementes mal despoldadas.

Existem despoldadores utilizados na cultura de café e adaptados para o guaraná. Neste caso, os frutos são colhidos em cachos, passados primeiro numa peneira – tela de arame. Separam-se, então, as raques (raminhos do cacho), partes das cascas caem numa esteira, conduzindo os frutos para o despoldador. Então será feito o despoldamento, separando as sementes dos frutos. As cascas e arilos saem por uma abertura lateral e caem em um balaio ou saco; por outra abertura, as sementes com pouco arilo caem numa canaleta com fluxo continuo de água corrente, num circuito fechado, para o processo de lavagem. As sementes mais pesadas são separadas e vão para o processo de torração; alguns restos de cascas e impurezas leves bóiam e são eliminados.

#### **4.6 Lavagem**

As sementes despoldadas, normalmente, ainda ficam com restos de arilo em suas superfícies. Para eliminá-los, é preciso passar pelo processo de lavagem.

O processo de lavagem é realizado em caixas d'água de 500 litros. Em algumas pequenas propriedades, lavam-se em córregos.

Nos tanques (caixas), as sementes mais pesadas vão para o fundo e as cascas, raques, boiam. Ficam nos tanques de um a três dias para desprendimento do arilo (mucilagem branca).

#### **4.7 Beneficiamento**

É o processo de secar ao sol ou torrar a semente despolpada e lavada. O produtor escolherá o processo de acordo com o que o consumidor desejar: seco ao sol ou torrado (em rama).

##### **4.7.1 Secagem ao sol**

Após a lavagem e retirada total do arilo é feita a secagem ao sol, que é o método mais utilizado pelos produtores. Consiste em espalhar as sementes em uma superfície, de forma que elas recebam a luz solar direta.

A superfície para realização da secagem pode ser revestida:

- Com lonas pretas estendidas diretamente no chão;
- Com tijolos e/ou cimentados (idênticos aos de café) – os chamados terreiros;
- Madeira – no caso de barças (idênticos às de cacau); ou forma de jirau (suporte distanciado do chão) – com cobertura de lonas plásticas transparentes, tanto na parte superior, quanto nas laterais;
- Cimentados: terreiros com cobertura de lonas plásticas transparentes, tanto na parte superior, quanto nas laterais.

As sementes são esparramadas na lona, terreiro com lona, em camadas finas. E, diariamente, revolvidas para frente e para trás, a cada duas a três horas de sol.

Quando está para chover, amontoam-se os grãos, cobrindo-os com a própria lona.

Quanto mais seco estiverem os grãos, mais espessas podem ser as camadas. A semente está seca em condições de armazenagem com teor de umidade em torno de 13%.

Na prática, este teor de umidade pode ser constatado das seguintes maneiras:

- Quando chacoalhado eles estalam, emitindo um barulho característico;
- Quando se quebra o casquilho e pressiona-se a amêndoa com a unha, sem deixar marcas na amêndoa, sabemos que a semente está seca. Também quando mordemos a amêndoa e encontramos certa resistência para quebrá-la. Se os dentes penetrarem, deixando sinal/marca, então constataremos que a semente está úmida.

O ideal é a utilização de um aparelho de medição de umidade para maior segurança. Isso porque, se não estiver bem seco no armazenamento, o guaraná poderá mofar e ficará prejudicado quanto à sua qualidade, dificultando a sua comercialização.

O terreiro deve ser construído com declive de 0,5 a 1,5% para escoamento das águas pluviais. Na parte de menor declive, devem ser construídos ralos, com grades com vãos de 4 mm, afim de impedir a passagem de algum grão.

O piso de tijolo é o mais aconselhado, por possuir capacidade de absorver e irradiar boa parte do calor.

A determinação do tamanho da área do terreiro vai depender do número de pés, da produção e do tempo médio de secagem na região. Para se ter uma base de cálculo desta área, podem ser considerados em torno de 5 a 6 sacos de 50 Kg de sementes secas ao sol por m<sup>2</sup>.

Os terreiros podem ser cobertos com lonas plásticas, com 2 metros de pé direito, a viga central ter 1 metro de altura acima da linha superior do pé direito, com cobertura superior e lateral, tipo cortina. Estes cobertos com lonas podem ter piso de tijolos ou cimentados diretamente no chão, ou ainda ser suspensos com piso de madeira ou com telas de malhas finas.

Para ventilação – a saída de ar quente – é aconselhável fazer no topo, saídas de ar, com coberturas tipo V invertido, para evitar entrada de chuvas.

#### 4.7.2 Torração

Após a secagem ao sol é feita a torração. Esta torração é efetuada em tachos de fazer farinha de mandioca (aguidar), tambores com adaptação para girarem sobre o calor à lenha, ou pode ser adaptado o torrador de café circulatório.

No aguidar ou tachos, a torração demora de três a cinco horas, num fogo à lenha e os grãos têm que ser movimentados continuamente para evitar que se queimem.

Os produtores não gostam muito de utilizar este sistema, devido ao calor que provoca no operador, também devido às perdas de peso e queimas caudadas nos grãos. O calor excessivo, provocado no operador é causado pela utilização de “rodos” de cabos curtos. Isso pode ser amenizado utilizando-se rodos de cabos mais longos, aumentando a distância do fogo ou adaptando-se um sistema de espátulas semelhante aos torradores industriais, nos quais se coloca um cabo no eixo e guia-se à distância. Esse método é utilizado pela maioria dos pequenos produtores.

Para se evitar a queima é necessário fazer a padronização das sementes, separando granulometricamente (por tamanho) em pelo menos dois tipos, sendo o ideal três tipos que segundo a Comissão Técnica de Norma e Padrões da Secretaria Nacional do Abastecimento, vinculada ao Ministério da Agricultura, elaborou as normas, compreendendo:

- Tipo 1: constituído de grãos oriundos de frutos maduros, sadios, desidratados, com o máximo de 12 % de umidade, até 2 % de impurezas, até 8 % de defeitos e isentos das características desclassificantes;

- Tipo 2: constituído de grãos oriundos de frutos maduros, sadios, desidratados até o máximo de 12 % de umidade, até 3 % de impurezas, até 15 % de defeitos e isentos das características desclassificantes.

As três classes quanto ao tamanho é uma proposta para atender às necessidades dos compradores e dos produtores, compreendendo:

- Grãos com diâmetro superior a 14 mm;
- Grãos com diâmetro maior que 12 mm e menor ou igual a 14 mm;
- Grãos com diâmetro menor ou igual a 12 mm.

#### **4.8 Armazenamento**

Para o armazenamento e boa conservação das sementes de guaraná *in natura*, é necessário que os grãos estejam bem secos, sem excesso de umidade, limpos e que o ambiente seja fresco, ventilado e higiênico. Um bom armazenamento mantém as propriedades do guaraná em seu estado natural.

A umidade excessiva pode fazer com que os grãos se deteriorem naturalmente pela respiração – depois de colhidos, eles continuam vivos e, como todo organismo vivo, respiram. Ela contribui para o aumento da atividade de fungos, o chamado mofo que causa o aceleração do processo degenerativo dos grãos. Este processo é a transformação da massa dos grãos em gás carbônico, água e calor (reação exotérmica – produção de calor). O aquecimento provocado por estes microrganismos pode criar bolsas de calor e o processo acelera mais, podendo aparecer bactérias termófilas (vivem em temperaturas elevadas de até 70 a 75°C). As perdas também podem ser muito grandes.

É importante a eliminação dos grãos que sofreram danos mecânicos, ou seja, os quebrados e triturados, pois estão mais sujeitos à deterioração – sem a proteção do casquilho, fica mais fácil o desenvolvimento de fungos.

A limpeza dos grãos, eliminando as impurezas, traz benefícios à qualidade do produto e evita a deterioração.

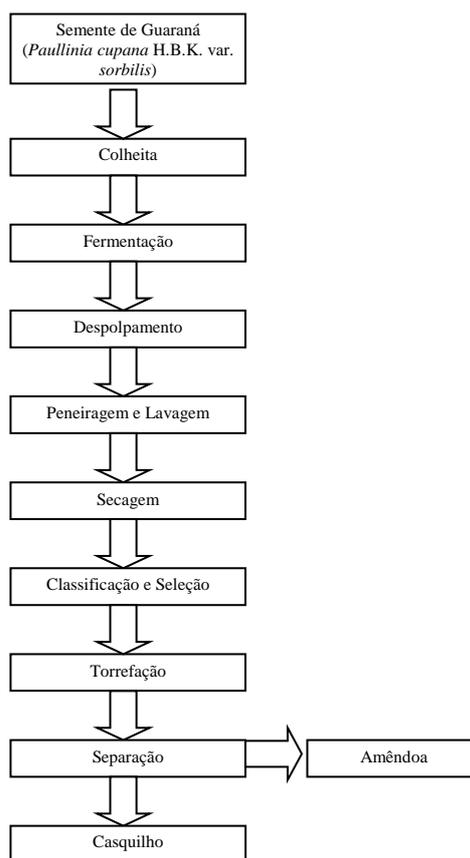
Um ambiente fresco e ventilado pode ser mantido por sistema de exaustores eólicos – movidos pelos ventos – no teto, para a retirada do ar quente, ou um sistema de ventiladores. Na parte superior são recomendadas aberturas para a saída do ar quente. Estas saídas devem estar tapadas com telas finas para evitar a entrada de insetos. As pilhas das sacarias devem ficar distantes pelos menos 20 centímetros das paredes para a circulação do ar e evitar a umidade das paredes. As sacarias devem ser de aniagem ou estopa, colocada sobre madeirames para que não fiquem em contato direto com o chão e haja circulação de ar.

Não se devem usar as sacarias de ráfia, pois estas retêm umidade e temperatura, dando maiores condições para o aparecimento de mofo.

É relevante considerar que a semente seca ao sol, no armazenamento, irá absorver umidade ao ar. Este fator é mais agravante, porque a colheita é feita no período das chuvas, conseqüentemente, a umidade relativa do ar é muito alta.

Na formação da pilha, o sistema de emblocamento é o cruzado, para melhor amarração. Aconselhamos fazerem pilhas de 10 sacas de altura, assim será possível evitar a quebra dos casquilhos e facilita o manuseio. Não se deve jogar a saca no chão e nem umas sobras as outras bruscamente. A higiene do armazém é realizada através de limpeza e desinfecção constantes, o que já elimina praticamente o ataque de ratos e insetos.

Deve-se impermeabilizar o piso para proteger a base da pilha e evitar que a umidade do piso evapore e condense-se, quando em contato com os grãos.



**Figura 7.** Fluxograma da Produção do Casquilho.

#### **4.9 Controles microbiológicos e físico-químicos de potabilidade básica de água de poço**

O controle físico e físico-químico foram realizados obedecendo-se as normas vigentes, levando em consideração o disposto na Portaria nº 518/GM de 25 de março de 2004 que estabelece o controle e seu padrão de potabilidade da água de consumo humano, especificados nos Quadros 2 e 3.

A pesquisa de coliformes a totais (35°C) e coliformes termotolerantes (45°C) foi realizada pela técnica do Número Mais Provável (NMP), através dos ensaios presuntivos e confirmativos e a pesquisa de Contagem de Bactérias Heterotróficas utilizou-se o método de plaqueamento em Ágar Padrão descritos em Silva et al., (2007).

Os ensaios físico-químicos proposto foram realizados conforme o artigo 17 da Portaria nº 518 de 25 de março de 2004, onde as metodologias analíticas para determinação dos parâmetros físicos, químicos, microbiológicos e de radioatividade devem atender às especificações das normas nacionais que disciplinem a matéria, da edição mais recente da publicação *Standard Methods for the Examination of Water and WasteWater*, de autoria das instituições American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) e Water Environment Federation (WEF), ou das normas publicadas pela ISO (International Standartization Organization).

PARÂMETRO	VMP <sup>(1)</sup>
Água para consumo humano	
Escherichia coli ou coliformes termotolerantes	Ausência em 100ml
Água na saída do tratamento	
Coliformes totais	Ausência em 100ml
Água tratada no sistema de distribuição (reservatórios e rede)	
Escherichia coli ou coliformes termotolerantes	Ausência em 100ml
Coliformes totais	Sistemas que analisam 40 ou mais amostras por mês: Ausência em 100 ml em 95% das amostras examinadas no mês; Sistemas que analisam menos de 40 amostras por mês: Apenas uma amostra poderá apresentar mensalmente resultado positivo em 100 ml
Contagem de bactérias heterotróficas	500 UFC/ml

**NOTAS:**

(1) Valor Máximo Permitido. UFC: Unidade Formadora de Colônia.

§ 7º Em 20% das amostras mensais para análise de coliformes totais nos sistemas de distribuição, deve ser efetuada a contagem de bactérias heterotróficas e, uma vez excedidas 500 unidades formadoras de colônia (UFC) por ml, devem ser providenciadas imediata coleta, inspeção local e, se constatada irregularidade, outras providências cabíveis.

**Quadro 2.** Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano

PARÂMETRO	UNIDADE	VMP <sup>(1)</sup>
Cor Aparente	uH <sup>(2)</sup>	15
Dureza	mg/L	500
Ferro	mg/L	0,3
Odor	-	Não objetável <sup>(3)</sup>
Gosto	-	Não objetável <sup>(3)</sup>
Sólidos dissolvidos totais	mg/L	1.000
Sulfato	mg/L	250
Turbidez	UT <sup>(4)</sup>	5
Zinco	mg/L	5
PARÂMETRO	UNIDADE	VR <sup>(5)</sup>
pH	-	6,0 a 9,5

**NOTAS:**

(1) Valor máximo permitido.

(2) Unidade Hazen (mg Pt-Co/L).

(3) critério de referência

(4) Unidade de turbidez.

(5) Valor Recomendado

**Quadro 3.** Padrão de aceitação organoléptico e físico-químico para consumo humano.

#### 4.10 Determinação de cafeína pelo método espectrofotométrico

A cafeína pode ser determinada por vários métodos, sendo comum a todos eles a necessidade de uma extração e purificação inicial. A partir desta extração, a dosagem poderá ser feita por espectrofotometria na região ultravioleta ou por cromatografia líquida de alta resolução. Os métodos espectrofotométricos baseados na absorção característica da cafeína a 274 nanômetros são os mais recomendáveis para a rotina. A etapa precedente à quantificação é realizada por extração ácida, ou seja, pela carbonização seletiva da matéria orgânica da amostra com ácido sulfúrico para a liberação da cafeína, seguida de sua extração com clorofórmio. A cafeína extraída é quantificada por espectrofotometria na região ultravioleta a 274 nanômetros (BRASIL, 2005).

Os ensaios foram realizados segundo Método Físico-químico para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

Resultados calculados e expressos em miligramas por cento da amostra, como segue abaixo:

$$\frac{(A - b) \times v}{a \times P \times 1000} = \text{cafeína miligrama por cento m/m}$$

Onde: A = absorbância da amostra

b = coeficiente linear da reta obtida na curva-padrão

a = absortividade (coeficiente angular da reta obtida na curva-padrão)

v = volume em mililitro da diluição do resíduo de cafeína

P = massa da amostra em grama.

#### 4.11 Composição centesimal do casquilho

A informação em relação ao conteúdo de nutrientes e de outros componentes presentes nos alimentos, *in natura* e processados, é necessária para elaboração de programas nos campos de nutrição, saúde e educação, além de agricultura, indústria e marketing de alimentos. De acordo com Sevenhuysen, “os benefícios econômicos de dados de composição de boa qualidade para a indústria e políticas governamentais são de fundamental importância”; tanto na padronização e regulamentação de alimentos, como no favorecimento do comércio internacional, através da rotulagem. Os bancos de dados de alimentos são usados para inúmeras atividades, porém todos os usuários têm algumas expectativas comuns. Eles esperam que os dados representem os alimentos de sua região, que tenham sido obtidos por métodos de análises apropriados, de maneira criteriosa e que reflitam a composição real do alimento. A partir do casquilho processado foram realizados os seguintes ensaios: cálcio, carboidratos, cinzas, cobre, ferro, fibra bruta, gordura total, magnésio, potássio, proteína, umidade e zinco. Os ensaios foram realizados em triplicatas.

##### 4.11.1 Cálcio

Foi determinado por Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado, conforme Procedimento Operacional Padrão – Procedimento Analítico nº 035/ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater nº 3120 B e United States of Environmental Protection Agency nº 6010.

#### 4.11.2 Carboidratos

Os carboidratos foram determinados por diferença, utilizando-se a relação:

Carboidratos % = 100 – (U% + P% + L% + F%), compreendendo:

U% = Umidade média por cento;

P% = Proteína média por cento;

L% = Lipídios média por cento;

C% = Cinza média por cento;

F% = Fibra média por cento.

#### 4.11.3 Cinzas

Obtido por aquecimento até ignição em temperatura de 550°C de quantidade conhecida da amostra seca e desengordurada. Ensaio realizado segundo Método Físico-químico para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), finalizando a determinação por medida gravimétrica.

Resultados calculados e expressos em gramas por cento da amostra, como segue abaixo:

$$\text{Cinza \%} = \frac{p}{A} \times 100 \quad \text{compreendendo:} \quad \begin{array}{l} p = \text{cinzas da amostra (g)} \\ A = \text{peso da amostra (g)} \end{array}$$

#### 4.11.4 Cobre

Ensaiado por Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado, conforme Procedimento Operacional Padrão – Procedimento Analítico nº 035/ Standard Methods for the Examination of Water and WasteWater nº 3120 B e United States of Environmental Protection Agency nº 6010.

#### 4.11.5 Ferro

Determinado por Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado, conforme Procedimento Operacional Padrão – Procedimento Analítico nº 035/ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater nº 3120 B e United States of Environmental Protection Agency nº 6010.

#### 4.11.6 Fibra bruta

Determinado pelo método do Procedimento Operacional Padrão e Físico-químico/ Procedimento Analítico nº 0004 do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal Método nº 19 - 2009.

#### 4.11.7 Gordura Total

Determinado pelo método de extração contínua com solvente (éter de petróleo) em aparelho de Soxhlet, com remoção posterior do solvente empregado por evaporação. O resíduo final obtido medido por gravimetria. O ensaio foi determinado conforme Método Físico-químico para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005). Os resultados foram expressos em gramas por cento da matéria integral, conforme cálculos realizados como segue abaixo:

$$\text{Gordura Total \%} = \frac{p}{A} \times 100 \text{ compreendendo: } p = \text{lipídios da amostra (g);}$$

A = peso da amostra (g)

#### 4.11.8 Magnésio

Ensaiado por Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado, conforme Procedimento Operacional Padrão – Procedimento Analítico nº 035/ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater nº 3120 B e United States of Environmental Protection Agency nº 6010.

#### 4.11.9 Potássio

Realizado por Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado, conforme Procedimento Operacional Padrão – Procedimento Analítico nº 035/ Standard Methods for the Examination of Water and WasteWater nº 3120 B e United States of Environmental Protection Agency nº 6010.

#### 4.11.10 Proteína

Foi determinado pelo método micro Kjeldahl após processo de digestão catalítica da matéria em meio ácido, sendo nitrogênio amoniacal destilado em meio alcalino, recebido em uma solução ácida de volume e concentração conhecidos. Determinado por titulometria de neutralização no destilado. O ensaio foi realizado de acordo com o Método Físico-químico para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005). O conteúdo protéico foi expresso em gramas por cento. Os cálculos foram realizados como seguem abaixo:

$$\text{Proteínas Totais \%} = \frac{(\text{Va} - \text{Vb}) \times \text{M} \times \text{f} \times 0,0014 \times 100}{\text{A}} \times 5,75 \text{ compreendendo:}$$

Va = Volume de ácido sulfúrico 0,05 M gasto na titulação da amostra;

Vb = Volume de ácido sulfúrico 0,05 M gasto na titulação da amostra;

M = Molaridade da solução do ácido sulfúrico;

f = Fator de correção da molaridade do ácido sulfúrico;

A = Peso da amostra em gramas.

0,0014 = Miliequivalente do Nitrogênio.

5,75 = Fator de conversão para proteínas vegetais.

#### 4.11.11 Umidade

Foi determinado pela diferença de massa da amostra inicial e final após secagem direta em estufa a 105°C até peso constante de acordo com Método Físico-químico para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005). No ensaio utilizou-se 2 gramas de amostra em triplicata.

#### 4.11.12 Zinco

Determinado por Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivamente Acoplado, conforme Procedimento Operacional Padrão – Procedimento Analítico nº 035/ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater nº 3120 B e United States of Environmental Protection Agency nº 6010.

### **4.12 Extração de cafeína**

Amostras de casquillo de guaraná foram adquiridas da Cooperativa Agrofrutíferas dos Produtores de Urucará (Agrofrut), localizada na 9ª sub-região (Baixo Amazonas) e transportada a Manaus por via fluvial. As amostras foram coletadas no período de outubro de 2010 a janeiro de 2011, correspondendo o período da safra do guaraná. O casquillo foi pulverizado em moinho tipo Willy e acondicionado em saco plástico e armazenado à temperatura ambiente.

#### 4.12.1 Extração a quente em pH ácido e básico

Pesaram-se 10 gramas de casquilha de guaraná em pó em balão de fundo chato de 500 mL, que foram misturados a 200 mL de água potável de poço, pH 5.1 e pH 7.5 ajustada com hidróxido de sódio a 10%. A mistura foi homogeneizada em mesa agitadora orbital por 5 minutos. Utilizou-se aparelho de soxhlet a 100°C nos tempos variáveis de 1, 3, 6 e 12 horas.

#### 4.12.2 Extração a frio em solução hidroalcoólica (40 : 60% v/v) e (60 : 40% v/v) em pH ácido e básico

Pesaram-se 10 gramas de casquilha de guaraná em pó em balão de fundo chato de 500 mL, que foram misturados a 200 mL de uma solução hidroalcoólica (40 : 60% v/v) compreendendo água potável de poço e álcool comercial a 97°GL, pH 6.3 e pH 7.5 ajustada com hidróxido de sódio a 10%. Na concentração (60 : 40% v/v) o pH foi de 5.6 e pH 7.5 ajustada com hidróxido de sódio. As misturas foram homogeneizadas em mesa agitadora orbital por 5 minutos. As amostras ficaram a temperatura ambiente nos tempos variáveis de 1, 3, 6 e 12 horas. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

### **4.13 Metodologia analítica para determinação de cafeína**

A metodologia analítica utilizada para a determinação de cafeína em casquilha de guaraná foi àquela proposta por Camargo & Toledo (1998) para análise de cafeína em pó de café.

Durante a extração à quente foi usado um sistema de resfriamento e condensação (Liebig) para evitar perdas por evaporação de líquido. Nas extrações a frio (percolação), o procedimento foi semelhante ao da extração a quente, mas sem aquecimento. Os tempos de extração foram de 1, 3, 6 e 12 horas, respectivamente. Todas as preparações foram feitas em triplicata e previamente homogeneizadas em mesa agitadora orbital por 5 minutos.

A solução obtida foi filtrada em papel de filtro qualitativo adaptado em funil de buchner acoplado a kitassato e bomba de vácuo. Em seguida, tomou-se uma alíquota de 20 mL do filtrado e procedeu-se à limpeza da amostra. Adicionaram-se 6 mL de uma solução saturada de acetato de chumbo básico, centrifugando-se as amostras a 3.500 rotações por minuto por 5 minutos. Retirou-se o sobrenadante e nele adicionou-se bicarbonato de sódio (0,1 g / 10 mL de água). A solução resultante foi novamente centrifugada por 5 minutos a 3.500 rotações por minuto. Ao sobrenadante foi adicionado ácido clorídrico 1,0 molar de modo a obter um pH ácido (ao redor de 4). Essa solução foi então completada com água Milli-Q para 100 mL num balão volumétrico e injetada no cromatógrafo.

#### 4.13.1 Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Entre as várias técnicas disponíveis para a análise de cafeína em alimentos, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido amplamente utilizada, em diversas matrizes, devido a sua rapidez e eficiência (MADISON et al., 1976), (ASHOOR et al., 1983), (BLAUCH, et al., 1983), (GALASKO et al., 1989), (CAMARGO et al., 1998), (NAIK et al., 1997), (CARLSON et al., 1998), (CASAL et al., 2000), (NAIK, 2001), (AQUINO et al., 2004), (CAMARGO et al., 1999).

Para tanto, foi utilizado um equipamento Shimadzu constituído por uma bomba quaternária modelo LC – 10 AT VP, injetor automático modelo SIL – 10 AF, acoplado a um detector de arranjo de diodos modelo SPD – M 10 A VP (detecção e quantificação de cafeína a 272 nanômetros). Para a separação da cafeína foi empregada uma coluna Shimadzu Shim-Pack C18 (15 cm x 4.6 mm IDX, partículas de 5 µm, diâmetro 100 Å poro diâmetro). A fase móvel utilizada na separação foi composta de acetonitrila – água (10 : 90 v/v), a uma vazão constante de 1,0 mL/mL. O volume de injeção foi de 20 µL.

O método utilizado para a quantificação de cafeína nas amostras foi o da padronização externa. A partir de uma solução estoque contendo 25 mg/100 mL de cafeína, obteve-se por diluição com água Milli-Q a faixa de concentrações desejadas (0,05, 0.1, 0.5, 5.0, 10.0, 15.0 e 25 mg/100 mL). A curva de calibração traçada mostrou-se linear dentro das concentrações de trabalho. O limite de detecção (expresso como concentração) foi determinado conforme proposto por Miller & Miller (1993). Todos os reagentes e substâncias usados nas análises de cafeína foram padrão HPLC. Para construção da curva padrão de cafeína foi utilizado o produto P.A. Merck. Os solventes usados para extração foram água de abastecimento (poço artesiano) e álcool comercial 97°GL, adquirido de fornecedores locais.

A identificação da cafeína nas amostras foi efetuada por comparação dos tempos de retenção dos picos de interesse e de seus respectivos espectros de absorção (200-400 nanômetros), com aqueles obtidos para o padrão nas mesmas condições de análise. Todos os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente ao acaso e em esquema fatorial. Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com teste F em comparação de medias através do Teste de Tukey em nível de 5% ( $P < 0.05$ ). As análises foram feitas isoladamente para cada procedimento.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Controles microbiológicos e físico-químicos da potabilidade básica da água de poço

Foi realizado o controle microbiológico e físico-químico da água de poço para garantir sua inocuidade em todo o processo de elaboração dos extratos, segundo o que está determinado na legislação vigente. Para isso foi realizada a pesquisa de coliformes totais, coliformes termotolerantes e contagem de Bactérias Heterotróficas. Os resultados microbiológicos encontram-se dentro dos valores máximo permitido determinado pela legislação vigente, conforme demonstrado no Quadro 4.

No controle físico-químico foram realizadas as análises de cor aparente, odor, gosto, dureza total, ferro total, pH, sólidos dissolvidos totais, sulfato e turbidez, segundo a determinação da legislação vigente.

Os resultados das análises demonstraram que a água de poço utilizada em todas as etapas de extração encontra-se adequada para o consumo humano. A observação realizada foi quanto ao pH 5.1 que se encontra abaixo dos valores sugeridos pela legislação vigente, o que não interferiu na realização do processo extrativo conforme demonstrado no Quadro 5.

<b>Amostra</b>	<b>Coliformes a 35°C NMP/100 mL</b>	<b>Coliformes a 45°C NMP/100 mL</b>	<b>Contagem de Bactérias Heterotróficas/mL</b>
Água de poço	Ausência	Ausência	1
<b>Referência</b>	<b>Ausência</b>	<b>Ausência</b>	<b>Até 500 UFC/mL</b>

Nota: NMP: Número Mais Provável

UFC: Unidade Formadora de Colônia

**Quadro 4.** Controle microbiológico em água de poço.

Amostra	Ensaio	Resultados	Unidade	Valor Máximo Permitido
Água de Poço	Cor Aparente	0,00	uH <sup>(1)</sup>	15
	Odor	Não objetável	-	Não objetável
	Gosto	Não objetável	-	Não objetável
	Dureza	9,45	mg/L	500
	Ferro	< 0,05	mg/L	0,3
	pH	5.1	-	6,0 a 9,5
	Sólidos dissolvidos totais	25,0	mg/L	1.000
	Sulfato	< 1.0	mg/L	250
	Turbidez	0,16	UT <sup>(2)</sup>	5

Nota: (1) Unidade Hazen (mg Pt–Co/L); (2) Unidade de turbidez.

**Quadro 5.** Resultados dos ensaios organolépticos e físico-químicos em água de poço.

## 5.2 Determinação de cafeína pelo método espectrofotométrica

A cafeína do casquilho da semente de guaraná foi determinada inicialmente utilizando uma extração em meio ácido, ou seja, pela carbonização seletiva da matéria orgânica da amostra com ácido sulfúrico para a liberação da cafeína, seguida de sua extração com clorofórmio. A etapa de quantificação da cafeína foi realizada por espectrofotometria na região do ultravioleta a 274 nanômetros no equipamento marca FEMTO. Os ensaios foram realizados em triplicatas e comparados com resultados de cafeína presente em guaraná em grãos, descritos por vários autores. Sendo observado que há um percentual de cafeína presente no casquilho que deve ser aproveitada principalmente na elaboração de xarope para indústrias de bebidas gaseificadas que necessitam de pequena quantidade de cafeína na sua formulação. Os resultados dos ensaios em triplicatas estão dispostos no Quadro 6.

Amostra	Ensaio	Unidade	Resultados
Casquilho-Amostra 1	Cafeína	mg%	2,00
Casquilho-Amostra 2	Cafeína	mg%	1,98
Casquilho-Amostra 3	Cafeína	mg%	2,02
Guaraná seco ao sol (WALKER et al.,2000)	Cafeína	mg%	4,07
Guaraná seco tradicionalmente (WALKER et al., 2000)	Cafeína	mg%	4,40
Guaraná em grãos (MEHR et al., 1996)	Cafeína	mg%	2,5-7,6
Guaraná em grãos (Metalab.unc.edu, 1996)	Cafeína	mg%	3,28
Guaraná em grãos (FARIA, 2000)	Cafeína	mg%	2,97

**Quadro 6.** Resultados de cafeína em casquilho de guaraná em comparação as amostras de sementes de guaraná, segundo vários autores.

### 5.3 Composição centesimal do casquilho de sementes de guaraná

A composição centesimal do casquilho de sementes de guaraná obtida no desenvolvimento deste trabalho foi comparada com aquela obtida por outros autores, como mostrado na Tabela 3 e 4. Entretanto, os valores se encontram diferenciados, visto que os valores comparativos se tratam de amostras de guaraná em grãos.

**Tabela 3.** Composição centesimal do casquilho de sementes de guaraná em comparação a semente de guaraná de vários autores.

Amostras	Umidade g%	Proteína g%	Gordura g%	Cinza g%	Fibra g%	Carboidrato g%
Casquilho de guaraná (Neste projeto)	9.0	16.54	0.79	1.52	33.96	38.42
Semente guaraná seca ao sol (WALKER et al., 2000)	6.50	14.12	1.95	1.61	34.30	48.02
Semente de guaraná seca tradicionalmente (WALKER et al., 2000)	8.7	16.1	2.2	1.83	41.2	38.7
Semente de guaraná (MEHR et al., 1996)	NA	9.86	3.00	1.42	NA	NA
Semente de guaraná (Metalab.unc.edu, 1996)	10.47	13.23	2.69	1.44	10.23	61.94
Semente de guaraná (FARIA, 2000)	6.82	12.40	2.48	1.55	2.87	NA

NA: Não avaliado

**Tabela 4.** Composição mineral do casquilho de sementes de guaraná em comparação a sementes de guaraná de vários autores.

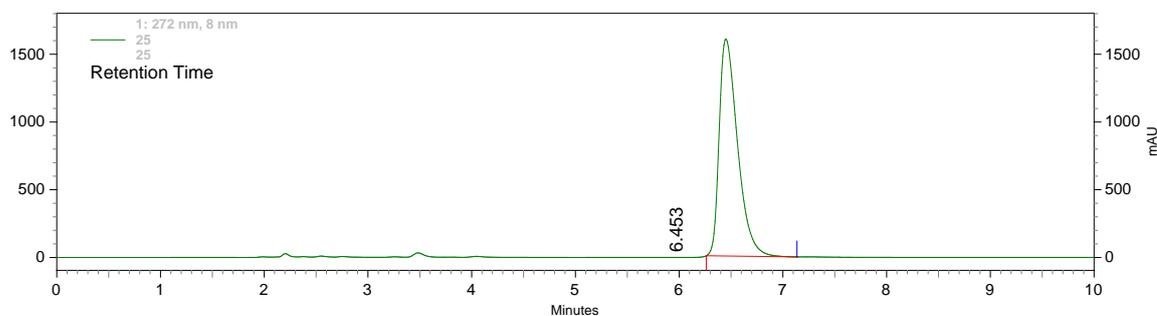
Amostras	Cálcio mg%	Potássio mg%	Magnésio mg%	Sódio mg%	Cobre mg%	Ferro mg%	Manganês mg%	Zinco mg%
Casquilho de guaraná (Neste projeto)	7.90	449.0	125.9	NA	0.94	8.2	NA	0.84
Semente guaraná seca ao sol (WALKER et al., 2000)	11.9	524.0	111.5	5.9	2.9	6.1	1.7	3.1
Semente de guaraná seca tradicionalmente (WALKER et al., 2000)	14.0	555.2	124.3	6.9	4.0	14.6	2.1	2.8
Semente de guaraná (CLIFORD, 1985)	29	337	83	6	0.9	2.6	2.8	1.7
Semente de guaraná (FARIA, 2000)	92.3	609	NA	NA	NA	6.2	NA	NA

NA: Não avaliado

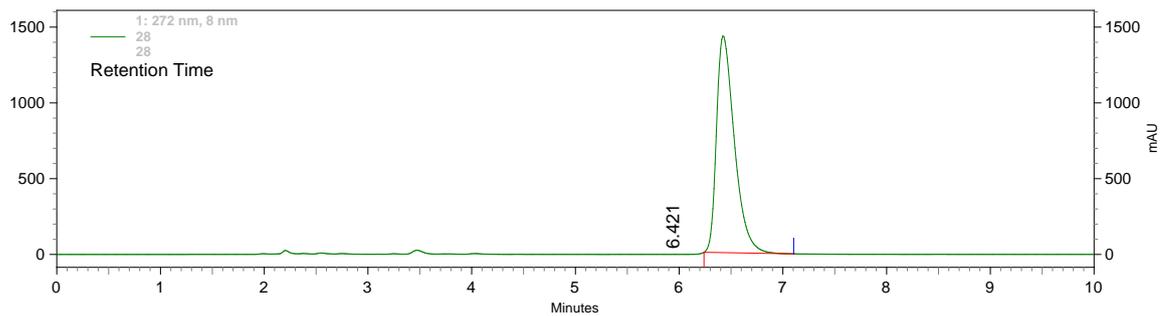
#### 5.4 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência dos extratos obtidos

As análises cromatográficas por CLAE foram realizadas em Equipamento Shimadzu constituído por uma bomba quaternária modelo LC – 10 AT VP, injetor automático modelo SIL – 10 AF, acoplado a um detector de arranjo de diodos modelo SPD – M 10 A VP (deteção e quantificação da cafeína a 272 nanômetros). Para a separação da cafeína foi empregada uma coluna cromatográfica Shimadzu Shim-Pack C 18 (15 cm x 4.6 mm ID x partículas de 5  $\mu$ m, diâmetro 100 Å poro diâmetro). A fase móvel utilizada na separação da cafeína foi composta de acetonitrila – água na concentração de (10 : 90 v/v), a uma vazão constantes de 1,0 mL/min. O volume de injeção foi de 20  $\mu$ L.

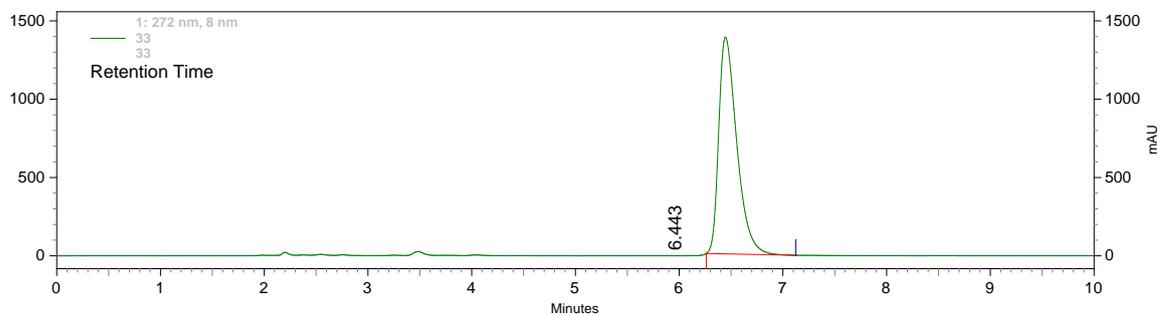
Os espectros da análise cromatográfica nas diversas amostras ensaiadas estão dispostos nas Figuras 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 e 31 a seguir.



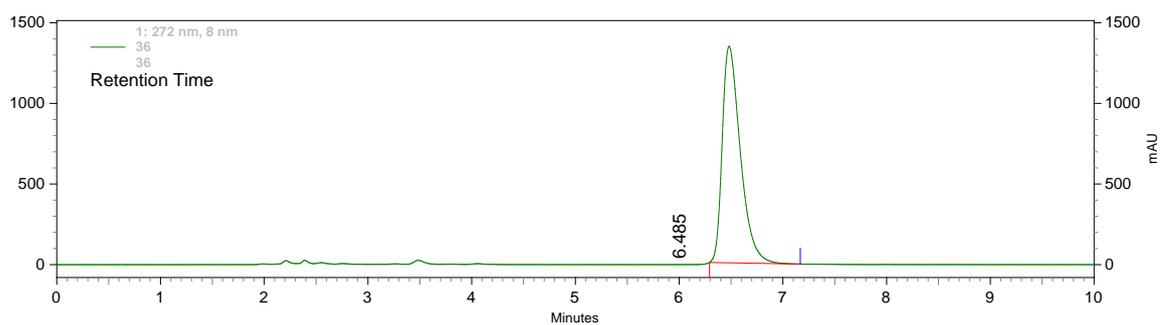
**Figura 8.** Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 5.1 por 1 hora.



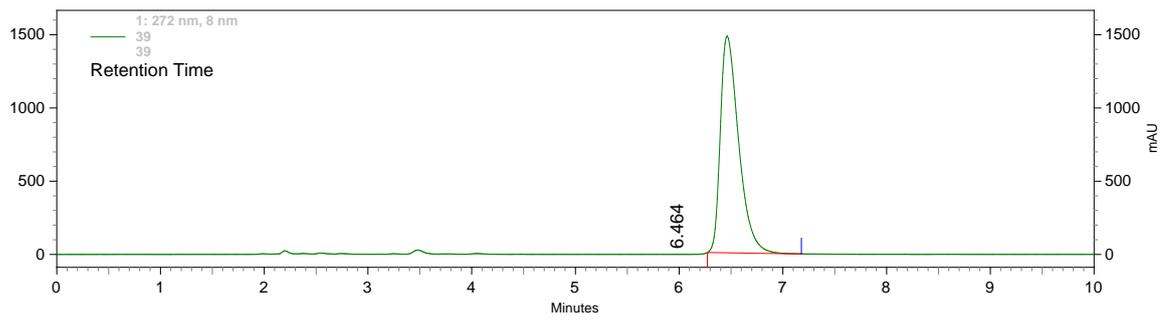
**Figura 9.** Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 5.1 por 3 horas.



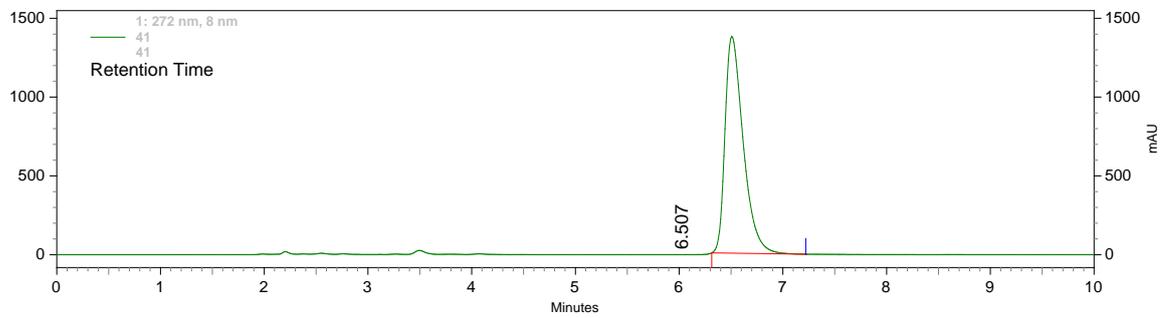
**Figura 10.** Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 5.1 por 6 horas.



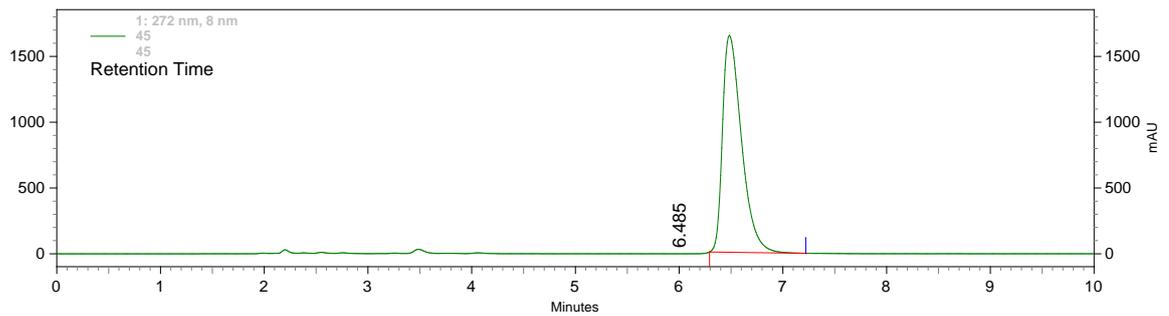
**Figura 11.** Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 5.1 por 12 horas.



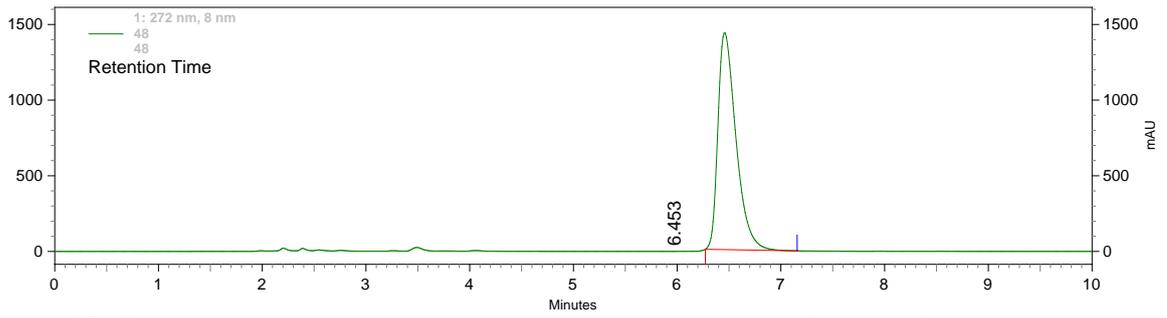
**Figura 12.** Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 7.5 por 1 hora.



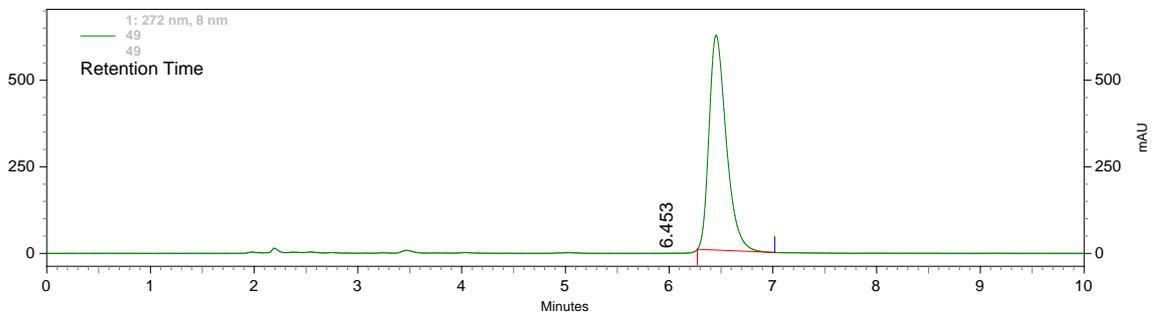
**Figura 13.** Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 7.5 por 3 horas.



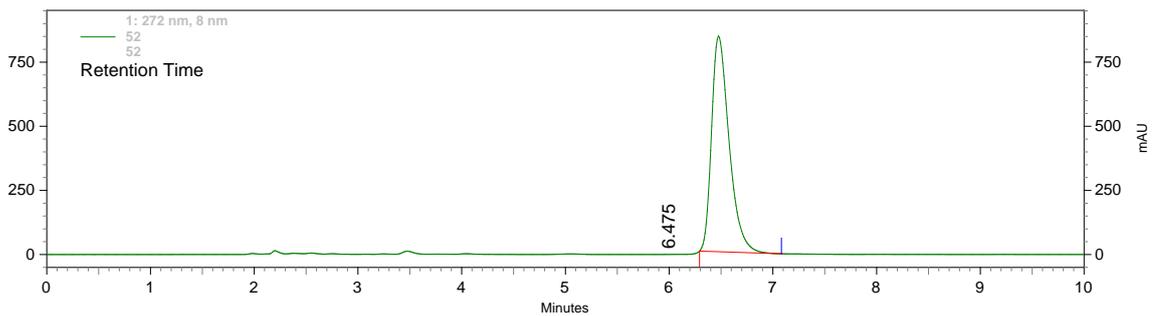
**Figura 14.** Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 7.5 por 6 horas.



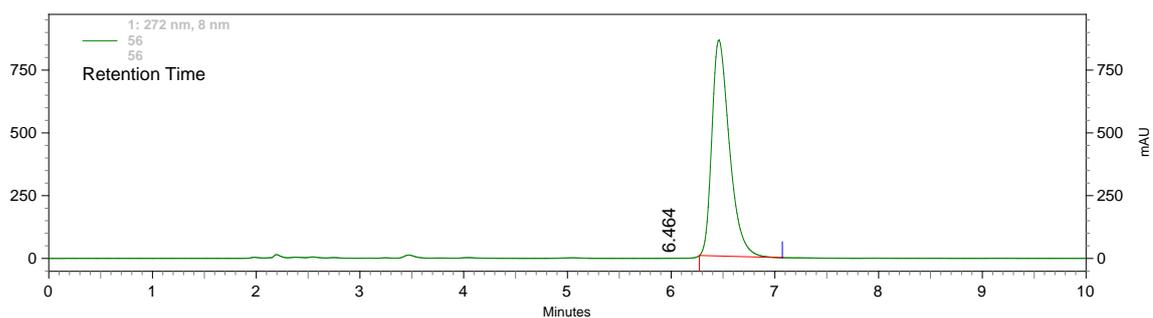
**Figura 15.** Cromatograma da extração de cafeína a quente, pH 7.5 por 12 horas.



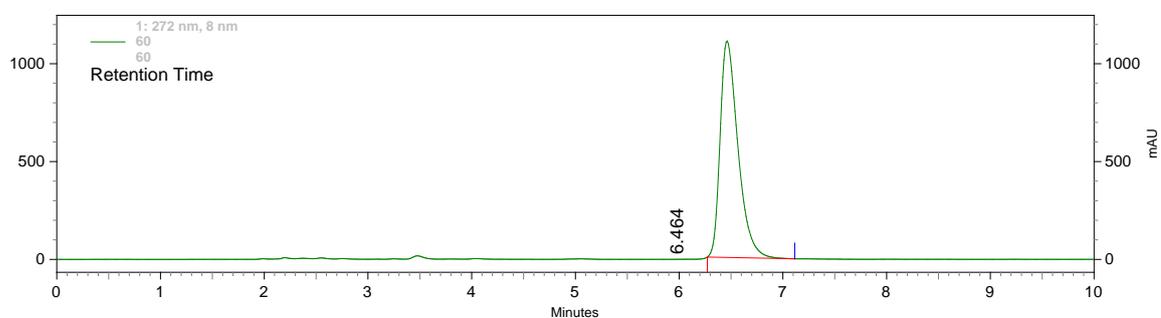
**Figura 16.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60 v/v), pH 6.3 por 1 hora.



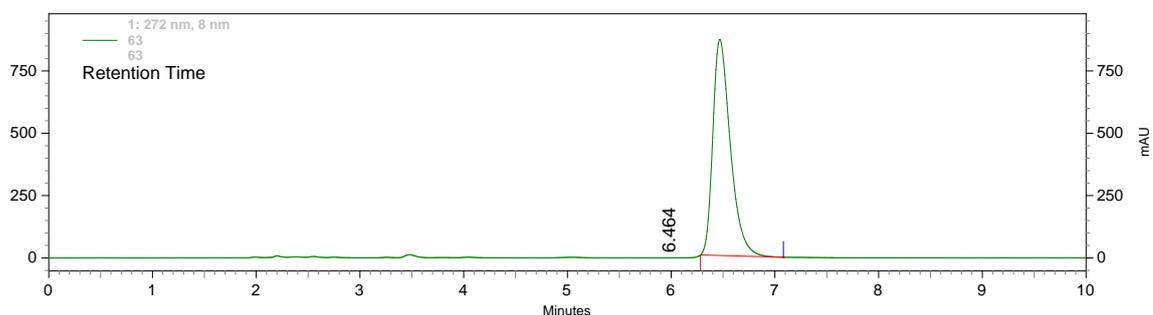
**Figura 17.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60 v/v), pH 6.3 por 3 horas.



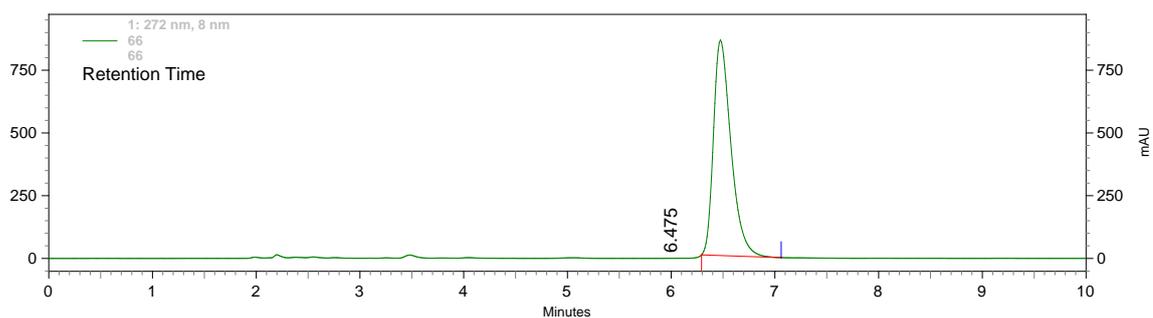
**Figura 18.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60 v/v), pH 6.3 por 6 horas.



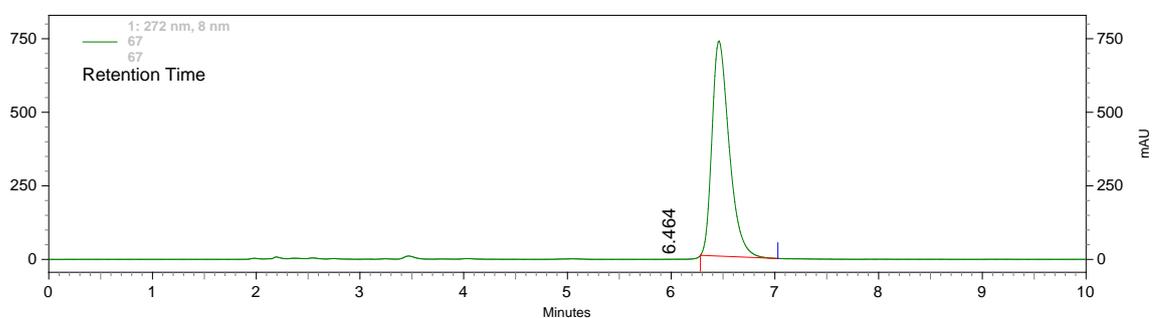
**Figura 19.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60 v/v), pH 6.3 por 12 horas.



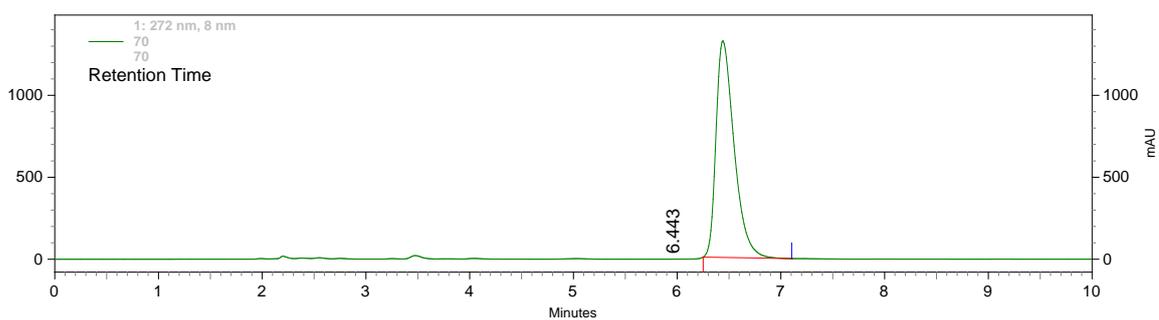
**Figura 20.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60 v/v), pH 7.5 por 1 hora.



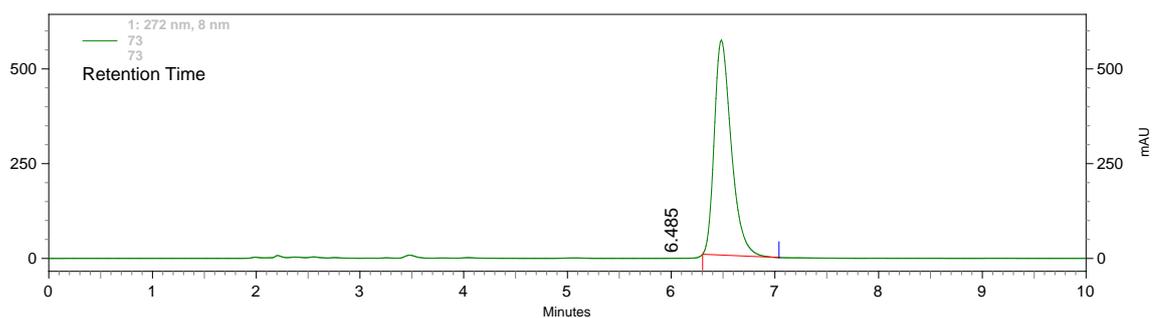
**Figura 21.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60 v/v), pH 7.5 por 3 horas.



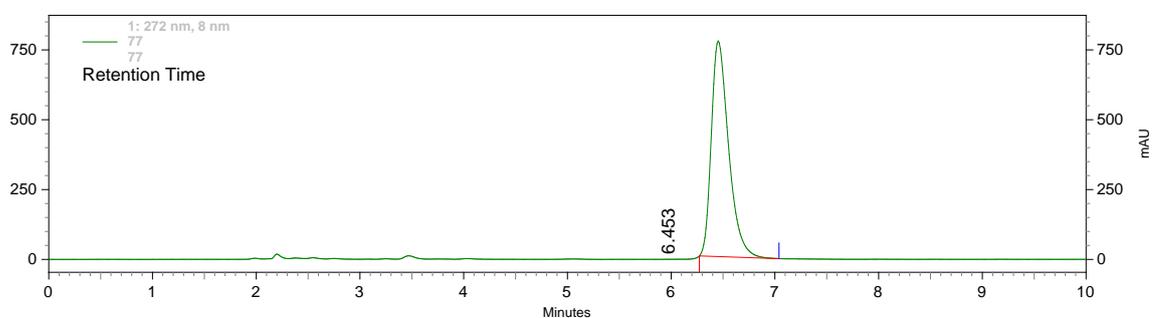
**Figura 22.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60 v/v), pH 7.5 por 6 horas.



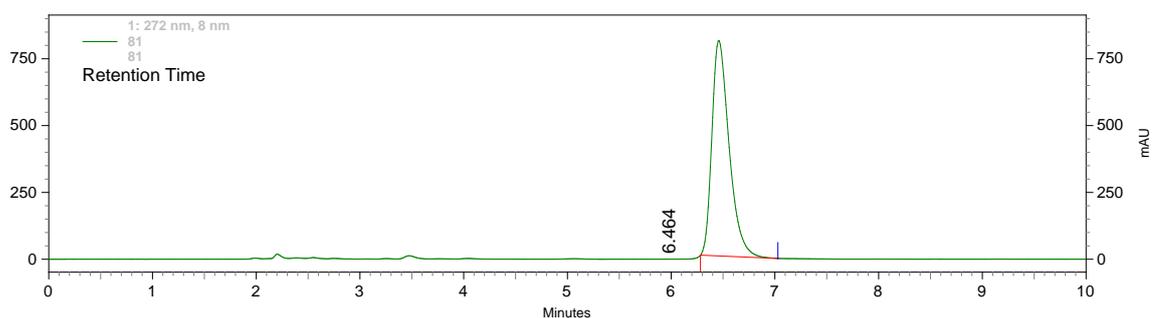
**Figura 23.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (40:60 v/v), pH 7.5 por 12 horas.



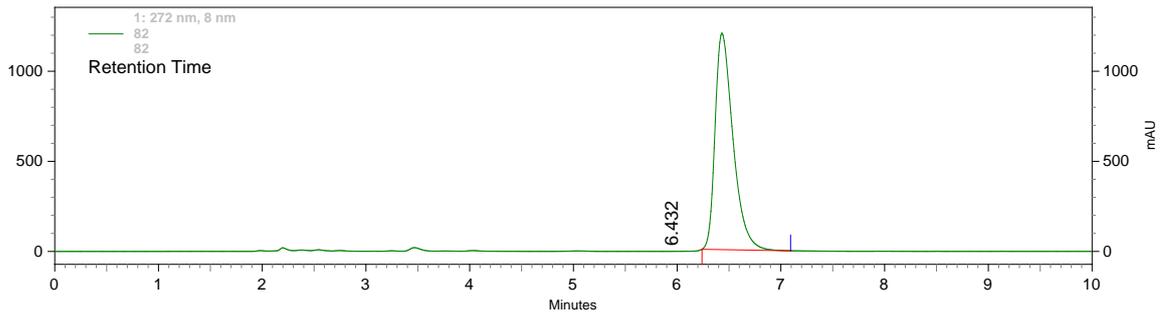
**Figura 24.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40 v/v), pH 5.6 por 1 hora.



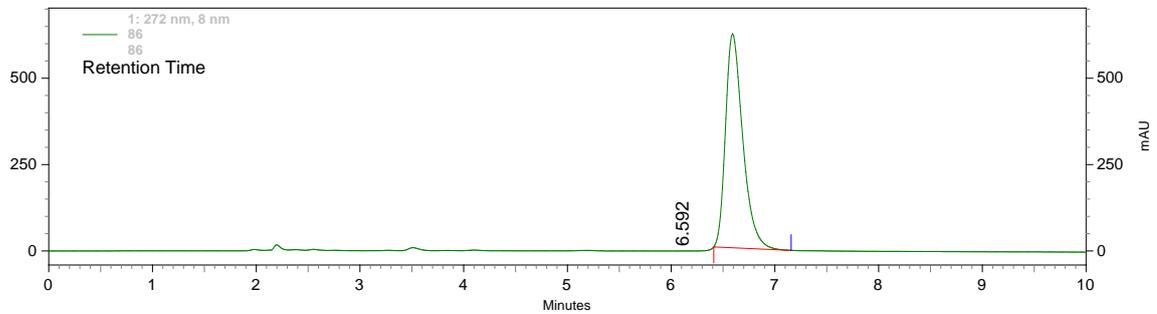
**Figura 25.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40 v/v), pH 5.6 por 3 horas.



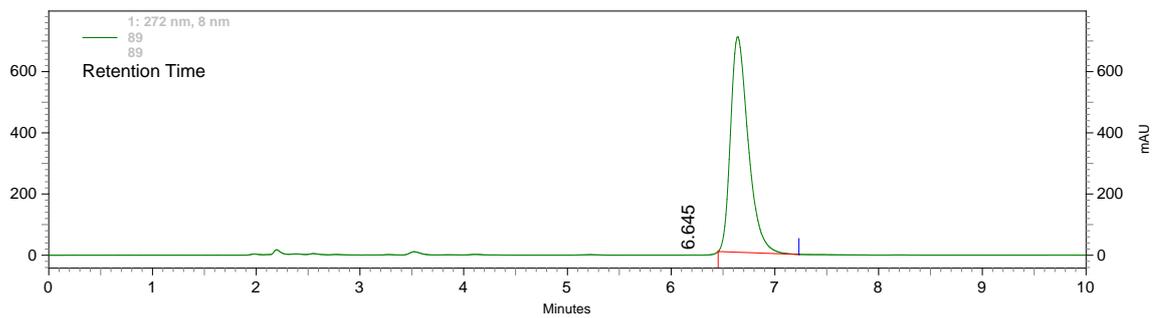
**Figura 26.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40 v/v), pH 5.6 por 6 horas.



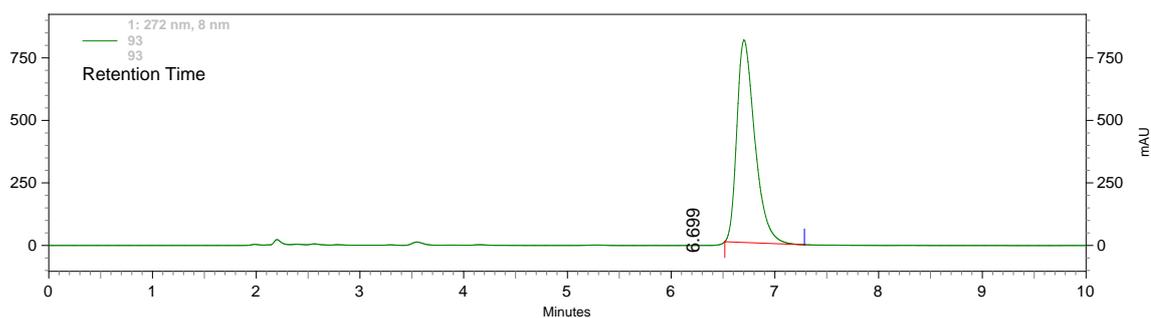
**Figura 27.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40 v/v), pH 5.6 por 12 horas.



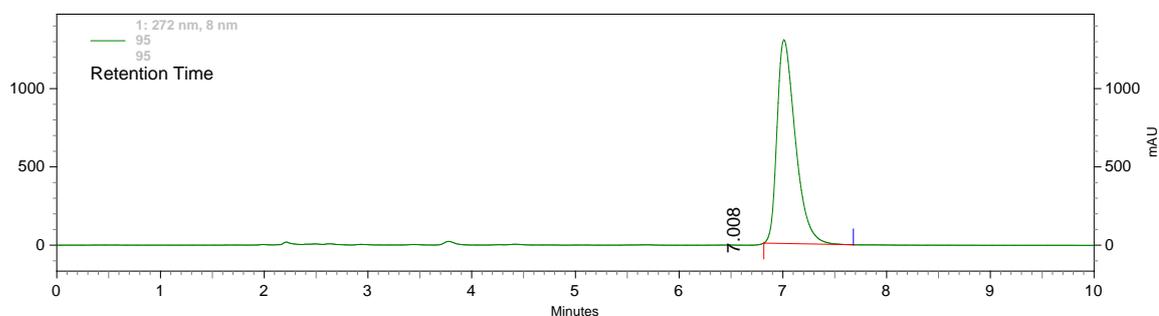
**Figura 28.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40 v/v), pH 7.5 por 1 hora.



**Figura 29.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40 v/v), pH 7.5 por 3 horas.



**Figura 30.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40 v/v), pH 7.5 por 6 horas.



**Figura 31.** Cromatograma da extração de cafeína a frio, mistura hidroalcoólica (60:40 v/v), pH 7.5 por 12 horas.

Os resultados percentuais de rendimento de extração de cafeína sob diferentes condições encontram-se na **Tabela 5**. Os dados revelaram que entre os procedimentos utilizados (**PRO.**), os de maior rendimento em cafeína foram **PRO3, PRO 4, PRO 5** e **PRO 6**. Análises estatísticas do variável tempo de extração (**t**) revelaram diferença entre **t12** e os demais (**t1, t3, t6**). Sendo **t12** o que se apresentou como o de maior rendimento.

Os resultados apresentados na **Tabela 6**, rendimento de extração em meios ácidos e alcalinos, mostraram diferença de **PRO 4** e **PRO 6** e demais procedimentos. Nos procedimentos referidos, os solventes usados na extração foram alcalinizados até pH 7.5, indicativo de que a cafeína é mais facilmente extraída em solução básica. No procedimento **PRO 2** o meio também foi alcalinizado; mesmo assim, o rendimento de extração foi menor. Esse fato se deve provavelmente à diferença de polaridade dos meios. Nos procedimentos **PRO 5** e **PRO 6** verificou-se diferença de rendimento entre o tempo **t12** e demais tempos de extração. Já nos procedimentos **PRO 3** e **PRO 4** o tempo **t6** não foi diferente dos demais tempos de extração. Esse fato mostra que o processo de extração nestas condições pode ser interrompido após 6 horas. Nos procedimentos **PRO 1** e **PRO 2** não ocorrem diferenças entre os tempos **t6** e **t12** entretanto, ambos mostraram-se diferentes dos tempos **t1** e **t3**.

## 6. CONCLUSÕES

- 6.1. O casquilho da semente de guaraná (*Paullinia cupana* H.B.K. var. *Sorbilis*) apresenta em sua composição um teor de cafeína aproximado, conforme comparativo de vários autores, da semente de guaraná;
- 6.2. O casquilho não necessita de cuidado no manuseio em comparação ao grão de guaraná, pois não acarretará em quebra ou deformação da estrutura do produto, já que o casquilho obtido vem de um processo de despulpamento e está pronto para uso;
- 6.3. Poderá ser utilizado como matéria-prima para elaboração de extratos utilizados nas indústrias de bebidas gaseificadas pela boa concentração de cafeína;
- 6.4. A cafeína presente no casquilho do guaraná (*paullinia cupana* var. **Sorbilis**) é mais eficientemente extraída usando-se mistura hidroalcoólica (40:60) a 28°C ao invés de água a 100°C;
- 6.5. A alcalinização do meio a pH 7.5 é recomendável nos processos extraídos de cafeína presente no casquilho do guaraná;
- 6.6. Economicamente, a mistura 60% H<sub>2</sub>O + 40% etanol é a mais recomendada nos processos de extração de cafeína de guaraná;
- 6.7. Em se tratando de processos que poderão ser realizados nas cooperativas produtoras de guaraná para obter um extrato com teor de cafeína, utilizando casquilho, água potável de poço e álcool comercial, vendido no comercio local, observamos que todos os processos extrativos demonstraram uma boa eficiência em obter cafeína;

- 6.8. Na preparação dos processos extrativos não requer equipamentos sofisticados e profissionais especializados, apenas observar o tempo e temperatura atribuída para a melhor extração a ser realizada;
- 6.9. Há necessidade de se contactar um laboratório para determinação e quantificação da cafeína extraída;
- 6.10. Há espaço para novos estudos em continuidade aos apresentados aqui, principalmente com relação ao controle microbiológico que poderá sofrer alteração no transporte da cooperativa até a indústria de bebidas gaseificas. Pesquisar a melhor embalagem de transporte bem como as boas práticas de fabricação na produção do casquilho;
- 6.11. Novos testes com diferentes solventes orgânicos se fazem necessários para tornar o processo extrativo de cafeína de guaraná mais barato e mais eficiente.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, F. Da chimica bromatológica do guaraná. *In: CONGRESSO SUL AMERICANO DE CHIMICA*, 8, Rio de Janeiro, 1937.
- ALBUQUERQUE, L. Guaraná: A vitalidade em grãos. *Amazônia em Foco*, 9-14, jun. 1991.
- ALTIMARI, L.R.; CYRINO, E.S.; ZUCAS, S.M.; BURINI, R.C. Efeitos ergogênicos da cafeína sobre o desempenho físico. *Paul. J. Phys. Educ.*, 14: 141-58, 2000.
- ALTIMARI, L.R.; CYRINO, E.S.; ZUCAS, S.M.; OKANO, A.H.; BURINI, R.C. Cafeína: ergogênico nutricional no esporte. *Braz. J. Mov. Sci.*, 9: 57-64, 2001.
- ALTIMARI, L.R.; MELO, J.; TRINDADE, M.; TIRAPEGUI, J.; CYRINO, E. Efeitos ergogênico da cafeína na performance em exercícios de media e longa duração. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v.5, n.1, p.87-101, 2005.
- ANGELUCCI, E.; TOCCHINI, R.P.; LAZARINE, V.B.; PRADO, M.A.F. Caracterização química da semente de guaraná (*Paullinia cupana* var. *Sorbilis* Duke). *Bol Inst Tecnol Aliment. Campinas* (56): 183-92. 1978.
- AQUINO, F.W.B.; AMORIM, A.G.N.; PRATA, L.F.; NASCIMENTO, R.F. Determinação de aditivos, aldeídos furânicos, açúcares e cafeína em bebidas por cromatografia líquida de alta eficiência: validação de metodologias. *Ciênc Tecnol Aliment.*, 24(1): 32-8. 2004.
- AREIA, C.A. **Anatomia da folha de guaraná *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (mart.) *Rodriguesia***, Rio de Janeiro, 25 (37) : 297-305, 1966.
- ARENS, K. **Sobre a anatomia da semente do guaraná**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, 1956. 4p. (Botânica publicação 2).
- ASHIHARA, H.; CROZIER, A. Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends Plant Sci.*, 6(9): 407-13. 2001.
- ASHOOR, S.H.; SEPERICH, G.J.; WOODDROW, C.M.; WELTY, J. High performance liquid chromatographic determinations of caffeine in decaffeinated coffee, tea and beverages products. **J Assoc of Anal Chem.**, 66(3): 606-9. 1983.
- AXELROD, J. & REICHENTHAL, J. The fate of caffeine in man and a method for its estimation in biological material. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, Baltimore, 107: 519-23. 1953.
- AZEVEDO, R.F. Guaraná, o café da Amazônia. **Panorama**, Curitiba, 14 (143) : 53-5. 1964.

BARONE, J.J. & ROBERTS, H. Human consumption of caffeine. In: DEWS, P.B. **Caffeine: Perspectives from recent research**. Berlin: Springer-Verlag, seção II, cap. 4, p. 59-73. 1984.

BARONE, J.J.; ROBERTS, H. Caffeine consumption. In: Caffeine Workshop, 7. Santorini. Washington (DC): **International Life Sciences Institute.**, cap. 1:1-5. 1993.

BARRETO, L.P. Guaraná a planta que afugenta a velhice. **Chác. e Quint.**, São Paulo, 52 : 105-6, 1935.

BATISTA, M.F. & BOLKAN, H.A. O superbrotamento do guaranazeiro. **Pesquisa em andamento – EMBRAPA**, Manaus (3) : 1-3, 1980.

BATISTA, M.F. **Controle químico in vitro de *Colletotrichum guaranicola* Albuquerque, agente causal de antracnose do guaraná.** EMBRAPA, Manaus, (49) : 1-3, 1983.

BECK, H.T. A survey of the useful species of *Paullinia* L. (Sapindaceae). **Advances in Economic Botany.**, v.8, p.41-56. 1990.

BELLET, S.; KERSHBAUM, A.; FINK, E.M. Response of free fatty acids to coffee and caffeine. **Metabolism.**, 17 : 702-7. 1968.

BEMPOMG, D.K.; HOUGHTON, P.J.; STEADMAN, K. The xanthine content of guaraná and its preparations. **Int. J. Pharm.**, 31, 175-181. 1993.

BENIGNI, R.; CAPRA, C.; CATTORINI, P.E. **Plante medicinale – Chimica farmacologia e terapia**, Milano, Inverne S Della Beffa, v.2, p.312. 1962.

BENOWITZ, N.L. Farmacologia clínica da cafeína. **Annu. Ver. Méd.**, 41 : 277-288. 1990.

BETENDORF, J.F. Chronica da Missão dos Padres da Companhia de Jesus no Estado do Maranhão. **Revista do Instituto Histórico e Geográfico Brasileiro**, 72(1). 1909.

BLAUCH, J.L.; TARKA, S.M. HPLC determination of caffeine and theobromine in coffee, tea, and instant hot cocoa mixes. **J Food Sci.**, 48(3): 745-50. 1983.

BONATI, M.; LATINI, R.; SADURSKA, B.; RIVA, E.; GALLETI, F.; BORZELLECA, J.F.; TARKA, S.M.; ARNAUD, M.J.; GARATTINI, S. Kinetics and metabolism of theobromine in male rats. **Toxicology**, Ireland, 30 : 327-41, 1984.

BRAGA, L.C. & ALVES, M.P. A cafeína como recurso ergogênico nos exercícios de endurance. **Braz. J. Mov. Sci.**, 8 : 33-7. 2000.

BRANDT, S.A.; CARMO, D.A.S.; REZENDE, A.M.; COSTA, M.A.; LADEIRA, H.H.; AAD NETO, A. **Estudo do mercado potencial de guaraná no Japão 1975 / 1985.** Manaus, ACAR-AM, p. 46. (ACAR. Série de Estudos de Economia Agrícola do Estado do Amazonas). 1975.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. Instituto Adolfo Lutz, 4ª Edição. Brasília, 2005.

BRASIL. Leis, decretos. Decreto nº 73.267 de 6 de dezembro de 1973. Diário Oficial da União, Brasília, 07 de dezembro de 1973., p. 12555. **Dispõe sobre padronização, classificação, inspeção e registro de bebidas e dá outras providências**, s.r.t. Lei nº 5823 de 14 de novembro de 1972.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Normas de Identidade, Qualidade, Embalagem, Armazenamento e Transporte do Guaraná em Grão, em Bastão e em Pó**. Portaria nº 70, de 16 de março de 1982. Diário Oficial da União, Brasília, DF. Publicado no Diário Oficial da União de 19/03/1982, Seção 1, Página 4.806.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Altera dispositivos do Regulamento aprovado pelo Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997, que dispões sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas**. Decreto nº 3.510, de 16 de junho de 2000. Publicado no Diário Oficial da União de 19/06/2000, Seção 1, Página 1.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Dispões sobre a padronização, classificação, inspeção e registro de bebidas e dá outras providências**. Decreto nº73.267 de 6 de dezembro de 1973. Publicado no Diário Oficial da União, Brasília, 07 de dezembro de 1973. p. 12555.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Refresco**. Portaria nº 544, de 16 de novembro de 1998. Publicado no Diário Oficial da União de 17/11/1998, Seção 1, Página 90.

BRITO, R.S. O guaraná. **Agricultura e Pecuária**, Rio de Janeiro, 2 (42) : 619-21, 1930.

BUCCI, L.R. Selected herbals and human exercise performance. *Am. J. Clín. Nutr.*, 72 (suppl) : 624S-36S. 2000.

BUNKER, M.L. & McWILLIAMS, M. Caffeine content of common beverages. *J. Am. Dietet. Assoc.*, Chicago 74(1) : 28-32, 1979.

BURG, A.W. & STEIN, M.E. Urinary excretion of caffeine and its metabolites in the mouse. *Biochem. Pharmacol.*, Oxford 21 (7) : 909-22, 1972.

BURG, A.W. & WERNER, E. Tissue distribution of caffeine and its metabolites in the mouse. *Biochem Pharmacol.*, Oxford, 21(7): 923-36, 1972.

CABRAL, C. O guaraná, a planta, propriedades gerais e classificação botânica. **Agricultura e Pecuária**, Rio de Janeiro, 94 : 727-9, 1932.

CAGNO,N. Sobre alguns aspectos importantes do guaraná *Paullinia cupana*, estudo e caracterização do seu alcalóide. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, Sao Paulo, 2 (1) : 69-92, 1942.

CAMARGO, M.C.R.; TOLEDO, M.C.F. HPLC determination of caffeine in tea, chocolate products and carbonated beverages. **J Food Sci Agric.**, 79(13): 1861-4. 1999.

CAMARGO, M.C.R.; TOLEDO, M.C.F. Teor de cafeína em cafés brasileiros. **Ciênc Tecnol Aliment.**, 18(4): 421-4. 1998.

CAMPOS, F.A.M. Valor energético de alguns alimentos brasileiros. **Arq. Bras. Nutr.**, Rio de Janeiro, 4 (5) : 5-19, 1974.

CARLINI, E.A. Plants and the central nervous system. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, (75): 501-12. 2003.

CARLSON, M.; THOMPSON, R.D. Liquid chromatographic determination of methylxanthines and catechins in herbal preparations containing guaraná. **J AOAC Inter.**, 81(4): 691-701. 1998.

CASAL, S.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; ALVES, M.R.; FERREIRA, M.A. Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid and caffeine content. **J Agric Food Chem.**, 48(8): 3420-4. 2000.

CHAAR, J.M. Ph.D. Thesis, The University of Tennessee, Knoxville, TN, 1990.

CHAIT, L.D. & GRIFFITHS, R.R. Effects of caffeine on cigarette smoking and subjective response. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, 34 (5) : 612-22, 1983.

CLARKSON, P.M. Nutritional ergogenic aids: caffeine. **Int. J. Sports Nutr.**, 3 : 103-11. 1993.

CLIFFORD, M.N.; CLARK, R.J.; MACRAE, R. In *Coffee Chemistry.*, ed. Elsevier Applied Science, New York, vol. 1, p. 153-202, 1985.

CORNISH. H.H & CHRISTMAN, A.A. A study of the metabolism of theobromine, theophylline and caffeine in man. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, 228 : 315-23, 1957.

CORRÊA, M.P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 545-55, 1952.

CORREIA, P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**, Ed. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, v.3, p.545, 1984.

COSTA, R.S.C. & SOUZA, V.F. "Recomendações técnicas sobre o cultivo do guaranazeiro". In: **Recomendações técnicas.** Porto Velho: Embrapa - Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia, nº 15, Nov. 1999, p. 1-8.

COSTILL, D.L.; DALSKY, G.; FINK, W. Effects of caffeine ingestion on metabolism and exercise performance. **Med. Sci. Sports Exerc.**, 10 : 155-8. 1978.

COUPER-SMARTT, J.; COUPER-SMARTT, I.; Caffeine consumption: a review of its use, intake, clinical effects and hazards. **Food Technol Aus.**, 36(3): 131-4. 1984.

- CRULS, G. O guaraná. **Dig. Econ.**, São Paulo, 4 (40) : 155-7, 1948.
- DAVIS, J.M.; ZHAO, Z.; STOCK, H.S.; MEHL, K.A.; BUGGY, J.; HAND, G.A. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. **AM. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, 284 : 399-404. 2003.
- DELBEKE, F.T.; DEBACKERE, M.; *Chrom.* **17**, 646. 1985.
- DEWICK, P.M. **Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach**, 1<sup>st</sup> ed., John & Wiley & Sons: Chichester, England, p.369. 1998.
- DUKE, A. **Plantas da cultura pré-colombiana na Amazônia brasileira**. Belém, Instituto Agrônômico do Norte, 1946. (Boletim técnico 8).
- DUKE, J.A. **Handbook of medicinal herbs**, CRC, Florida. p. 349. 1985.
- EATON, D.C.; **Laboratory Investigations in Organic Chemistry**, McGrall-Hill; New York. 1989.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistemas de Produção para Guaraná**. Manaus, 1983. 31p. (Série sistemas de Produção, Boletim 1).
- EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL, **Guaraná: como cultivar**. Manaus: 1998., 1998a:3
- EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL, **Sistema de produção para guaraná**. 3 ed., Manaus: 1998.
- ESPÍNOLA, E.B.; DIAS, R.F.; MATTEI, R.; CARLINI, E.A. Pharmacological activity of Guaraná (*Paullinia cupanna* Mart.) in laboratory animals. **J. Ethnopharmacol.**, 55, 223-229. 1997
- ESSIG, D.A.; COSTIL, D.L.; VAN HANDEL, P.J. Effects of caffeine ingestion on utilization of muscle glycogen and lipid during leg ergometer cycling. **Int. Sports Med.**, 1: 86-90. 1980.
- FARIA, J.J.P. **Manual de Produção do Guaraná**. Edição SEBRAE. Cuiabá, MT. 2000.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4 ed., Parte II., Fasc. 5. São Paulo: Atheneu. 2004.
- FERDHOLM, B.B. On the mechanism of action of theophiline and caffeine. **Acta Med. Scand.**, 217 : 149-153. 1985.
- FIGUERÊDO, E.R. Sobre o guaraná ou uaraná (*Paullinia sorbilis* Mart. *Paullinia cupana* Kunth.). **Chác. e Quint.**, São Paulo, 53 (3) : 319-24, 1936.
- FILLMORE, C.M.; BARTOLI, L.; BACH, R.; PARK, Y. Nutrition and dietary supplements. **Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.**, 10 : 673-703. 1999.

- FINNEGAN, D. The health effects of stimulant drinks. *Nutr Bull.*, 28(2): 147-55. 2003.
- GALASKO, G.T.F.; FURMAN, K.L.; ALBERTS, E. The caffeine contents of non-alcoholic beverages. *Food Chem Toxicol.*, 27(1): 49-51. 1989.
- GENNARO, M.C.; ABRIGO, C.; *Fresenius J. Anal. Chem.*, **343**, 523. 1992.
- GEORGE, A.J. Central nervous system stimulants. *Baillieres Best Pract. Res. Endocrinol Metab.*, 14 : 79-88. 2000.
- GOODMAN & GILMAN. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Novena edición. McGraw-Hill Interamericana. México, D.F. 1996.
- GRAHAM, T.E. & SPRIET, L.L. Performance and metabolic responses to a high caffeine dose during prolonged exercise. *J. Appl. Physiol.*, 71 : 2292-8. 1991.
- GRAHAM, T.E.; RUSH, J.W.; VAN SOEREN, M.H. Caffeine and exercise: metabolism and performance. *Can. J. Appl. Physiol.*, 19 : 111-38. 1994.
- GRAHAM, T.E.; HIBBERT, E.; SATHASIVAM, P. Metabolic and exercise endurance effects of coffee and caffeine ingestion. *J. Appl. Physiol.*, 85 : 883-9. 1998.
- GRAHAM, T.E.; HELGE, J.W.; MACLEAN, D.A.; KIENS, B.; RICHTER, E.A. Caffeine ingestion does not alter carbohydrate or fat metabolism in human skeletal muscle during exercise. *J. Physiol.*, 15 : 837-47. 2000.
- GRAHAM, T.E. Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance. *Sports Med.*, 31 : 785-807. 2001.
- HENMAN, A.R. Guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*): ecological and social perspectives on economic plants of the central amazon basin. *Journal of Ethnopharmacology*, n. 6, p. 311-38. 1982.
- HENMAN, A.R. Vida Natural – **O Guaraná: Sua cultura, propriedade, formas de preparação e uso**, 2 ed. São Paulo: Global/Ground, p.77. 1986.
- [http:// metalab.unc. edu/ London/ orgfarm/ gardening/ gardening-faqs/ culinary-herbs/ SWSBM/Constituintes/Paullinai\\_cupana. txt.](http://metalab.unc.edu/London/orgfarm/gardening/gardening-faqs/culinary-herbs/SWSBM/Constituintes/Paullinai_cupana.txt)
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Censo agrícola de 1999. Disponible em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. 1999.
- IFIC-review. Caffeine and health: clarifying the controversies, April, 1988.
- IFT. Evaluation of caffeine safety. *Food Technology*, Chicago, v.40, n.3, p. 106-115, March. 1988.

- IVY, J.L.; COSTILL, D.L.; FINK, W.J.; LOWER, R.W. Influence of caffeine and carbohydrate feedings on endurance performance. *Med.. Sci Sports Exerc.*, 11 : 6-11. 1979.
- JACOBSON, B.H. & KULLING, F.A. Health and ergogenic effects of caffeine. *Br. J. Sports Med.*, 23 : 34-40. 1989.
- JAMES, J.E. Caffeine and health. London. **Academic Pres.**, p.432. 1991.
- JEUKENDRUP, A.E. & MARTIN, J. Improving cycling performance: how should we spend our time and money. *Sports Med.*, 31 : 559-69. 2001.
- JUHN, M.S. Ergogenic aids in aerobic activity. *Curr. Sports Med. Rep.*, 1 : 233-8. 2002.
- JUHN, M.S. Popular sports supplements and ergogenic aids. *Sports Med.*, 33 : 921-39. 2003.
- KALOW, W. & TANG, B. The use of caffeine for enzymatic assays: A critical appraisal. *Clin. Pharmacol Ther.* , 53 : 503-14. 1993.
- LEONARD, T.K.; WATSON, R.R.; MOHS, M.E. The effects of caffeine on various body systems: a review. *J. Am. Diet. Assoc.*, 87(8): 1048-52. 1987.
- LIRA, M.B. Aspectos bromatológicos do guaraná. **Bol. Assoc. Com. Amaz.** Manaus, 6(62) : 18-23, 1946.
- MADISON, B.L.; KOZAREK, W.J.; DAMO, C.P. High-pressure liquid chromatography of caffeine in coffee. **J Assoc Off Anal Chem.**, 59(6): 1258-61. 1976.
- MAIA, A.L. **O guaraná.** Salvador, associação dos Engenheiros Agrônomos da Bahia, 1972.
- MARAVALHAS, N. Casca de guaraná – matéria prima para cafeína – método industrial de extração. In : INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISA DA AMAZÔNIA (INPA). **Estudos sobre o guaraná e outras plantas produtoras de cafeína.** Manaus, 5-11, 1965.
- MATTEI, R.; DIAS, R.F.; ESPÍNOLA, E.B.; CARLINI, E.A.; BARROS, S.B. Guaraná (*Paullinia cupana*): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidants activity *in vitro*. *J. Ethnopharmacol.*, 60, 111-116. 1998.
- McKIM, E.M.; McKIM, W.A. Caffeine: how much is too much? *Can Nurse.* Ottawa. 89(11): 19-22. 1993.
- MEDRI, M.E.; LLERAS, F.; VALOIS, A.C.C. Comparação anatômica entre folhas diplóides e poliplóides do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. *Acta Amazônica*, Manaus, 10(2): 283-8. 1980.
- MENEZES JÚNIOR, J.B.I. Investigações sobre o exame microscópico de algumas substâncias alimentícias. **Ver. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, 9 : 19-77, 1949.

- MEHR, C.B.; BISWAL, R.N.; COLLINS, J.L.; COCHRAN, H.D.; *J. Supercritical Fluids.*, 9 : p. 185-91, 1996.
- MILANEZ, F.R. Anatomia do fruto do guaraná. **Arq. Jar. Bot.**, Rio de Janeiro, 16 : 57-100, 1958.
- MILLER, J.C.; MILLER, J.N. *Statistic for Analytical Chemistry*, Chichester: Ellis Horwood Limited, 1993.
- MILES, C.I. Biological effects of caffeine. FDA Status. **Food Technol.**, Chicago, 37 (9) : 48-50, 1983.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, DOS RECURSOS HÍDRICOS E DA AMAZÔNIA LEGA, Secretaria de Coordenação da Amazônia, "Guaraná". In: **Produtos potenciais da Amazônia**. Brasília: MMA/SUFRAMA/SEBRAE, 1998.
- MOUSINHO, M.C. **Identificação de alcalóides xantínicos do guaraná (*Paullinia cupana* HBK) por cromatografia sobre camada delgada em amostras de urina**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1984. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 1984.
- NAIK, J.P. Improved high performance liquid chromatography method to determine theobromine and caffeine in cocoa and cocoa products. **J Agric Food Chem.**, 49(8): 3579-83. 2001.
- NAIK, J.P.; NAGALAKSHMI, S. Determination of caffeine in tea products by an improved high performance liquid chromatography method. **J Agric Food Chem.**, 45(10): 3973-5. 1997.
- NASCIMENTO FILHO, F.J. "Novos clones de guaranazeiro para o estado do Amazonas". In: **Recomendações técnicas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, n° 8, nov. 2000, p. 1-3.
- NISHITANI, E.; SAGESAKA, M.Y. Simultaneous determination of catechins, caffeine and other phenolic compounds in tea using new HPLC method. **J Food Composition and Analysis.**, 17, 675-85. 2004.
- OKAWA, K.; SILVA, J.L.; SOUZA, W.M. **Exposição preliminar da problemática do guaraná**. Manaus, Ministério da Agricultura. Secretaria de Produção Rural do Estado. 1969
- OTOBONE et al., 2005. 8p.
- PALUSKA, S.A. Caffeine and exercise. **Curr. Sports Med. Rep.**, 2 : 213-9. 2003.
- PARSONS, W.D. & NEIMS, A.H. Effect of smoking on caffeine clearance. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, 24 (1) : 40-5, 1978.
- PAULA, R.D. & LACHAN, A. **Contribuição ao estudo do guaraná (*Paullinia cupana*)**. Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Tecnologia, 1967, 11p.

PINTO, M.A.R. Guaraná: alguns aspectos da produção e da comercialização. **Rev Política Agricola.**, 7(1): 1-7. 1998.

PIRES, J.M. Guaraná e cupanna. **Ver. Soc. Agron. Veter. Pará**, Belém, 1 (3) : 9-20, 1949.

POWERS, S.K.; BYRD, R.J.; TULLEY, R.; CALLENDER, T. Effects of caffeine ingestion on metabolism and performance during graded exercise. **Eur. J. Appl. Physiol Occup. Physiol.**, 50 : 301-7. 1983.

ROBERTS, H.R. & BARONE, J.J. Biological effects of caffeine. History and Use. **Food Technol.**, Chicago, 37 (9) : 33-9. 1983.

RODRIGUEZ, C.L.; MARTA, L.; MAIA, R.; MIRANDA, M.; RIBEIRINHO, M.; MÁGUAS, C. Application of solid-phase extraction to brewed coffee caffeine and organic acid determination by UV/HPLC. **J of Food Composition and Analysis.**, 20, 440-48. 2007.

ROGERS, C.C. Caffeine. **Sports Med.** 13 : 38-40. 1985.

SCHULTES, R.E. El guaraná: su historia y su uso. **Agric. Trop.**, Bogotá, 11(1) : 131-40, 1955.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** São Paulo, 3ª Edição, Livraria Varela, 552 p. 2007.

SIMÕES, M.C.O. et al., **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre/ Florianópolis, Editora da Universidade/UFRGS/Editora da UFSC. p. 723-734. 1999.

SINCLAIR, C.J.D. & GEIGER, J.D. Caffeine use in sport: a pharmacological review. **J. Sports Med. Phys. Fitness.**, 40 : 71-9. 2000.

SOUSA, M.P. et al. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras.** Fortaleza: EUFC, p. 416. 1991.

SPRIET, L.L. & GIBALA, M.J. Nutritional strategies to influence adaptations to training. **Sports Sci.**, 22 : 127-41. 2004.

SPRIET, L.L. Caffeine and performance. **Int. J. Sports Nutr.**, 5 : 84-99. 1995.

STAVRIC, B. Methylxanthines: toxicity to humans II. Caffeine. **Food Chem. Toxicol.** , 26(7): 622-45. 1988.

STEPHENSON, P.E. Physiologic and psychotropic effects of caffeine on man. **J. Am. Diet Assoc.**, 71 : 240-7. 1977.

SYED, I.B. The effects of caffeine. **J Am Pharm Assoc.**, Washington, 16(10): 568-72. 1976.

SUPERINTENDÊNCIA DA ZONA FRANCA DE MANAUS – SUFRAMA. **Estudo de Viabilidade Econômica - Guaraná.** v.6, 2003.

- TARKA, S.M.; ANARUD, M.J.; DVORCHICK, B.H.; VESSELL, E.S. Theobromine kinetics and metabolic disposition. **Clin. Pharmacol Ther.**, St. Louis, 34 (4) : 546-55. 1983.
- TARNOPOLSKY, M.A. Caffeine and endurance performance. **Sports Med.** 18 : 109-25. 1994.
- TINÔCO, P.B. “Módulo mínimo econômico para a cultura do guaraná no estado do Amazonas”. In: **Pesquisa em andamento**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, n° 45, dez, p. 1-5. 1998.
- TOCCHINI, R.P. Processamento e obtenção de produtos do guaraná. **Bol. SBCTA** (Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos), Campinas, v.23, n. 5, p. 90-95. 1989.
- TOCCHINI, R.P. Alguns aspectos sobre o guaraná (*Paullinia* var. *sorbilis* Ducke) e sua relação com o refrigerante guaraná. **Bol. Inst. Tecnol. Aliment.** Campinas, 8(2) : 391-407. 1977.
- VAN NIEUWENHOVEN, M.A.; BRUMMER, R.J.M.; BROUNS, F. Gastrointestinal function during exercise: comparison of water, sport drink, and sports drink with caffeine. **J. Appl. Physiol.** 89 : 1079-85. 2000.
- VICTOR, B.S.; LUBETSKY, M.; GREDEEN, J.F. Somatic manifestations of caffeinism. **J Clin Psychiat.**, 42(5): 185-8. 1981.
- VON BORSTEL, R.W. Biological of caffeine. Metabolism. **Food. Technol.**, Chicago, 37(9): 40-6. 1983.
- VON POSER, G.L. & MENTZ, L.A. “Diversidade biológica e sistemas de classificação”, em “Farmacognosia: da planta ao medicamento”, Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, cap. 4, p. 61-74. 2001.
- WADA. World Anti Doping Agency. The 2010 prohibited list international standard. Disponível em : [http://www. Wada-ama.org](http://www.Wada-ama.org). Acesso em: 10 setembro 2009.
- WALKER, T.H.; CHAAR, J.M.; MEHR, C.B.; COLLINS, J.L. The chemistry of guaraná: Guaraná, Brazil's Super-Fruit for the Caffeinated Beverages Industry. **American Chemical Society.**, p. 305-14. 1999.
- WANG, Y.; LAU, C.E. Caffeine has similar pharmacokinetics and behavioral effects via the i.p. and p.o. routes of administration. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 60 : 271-78. 1998.
- WARREN, R.N. Metabolism of xanthine alkaloids in man. **J. Chromatog.**, Amsterdam, 40 : 468-9. 1969.
- WATZEL, L. O guaraná: seu valor industrial e medicinal. **Bol. Min. Agric.**, Rio de Janeiro, 36(46) : 25-32. 1937.

WECKERLE, C.S.; STUTZ, M.A.; BAUMANN, T.W. Purine alkaloids in *Paullinia*. **Phytochemistry**. 64: 735-42. 2003.

YAMADA, Y.; NAKAZATO, Y.; OHGA, A. The mode of action of caffeine on catecholamine release from perfused adrenal glands of cat. **Br. J. Pharmacol.**, 98 : 351-6. 1989.

ZOUMAS, B.L.; KREISER, W.R.; MARTIN, R.A. Teobromine and caffeine content of chocolat products. Chicago. **J. Food. Sci.**, 45(2) : 314-6, 1980.

**Tabela 5.** Rendimentos de extração de cafeína do casquilho de guaraná.

Tempo (h)	Rendimento de extração %					
	<b>PRO 1</b> pH ácido	<b>PRO 2</b> pH alcalino	<b>PRO 3</b> pH ácido	<b>PRO 4</b> pH alcalino	<b>PRO 5</b> pH ácido	<b>PRO 6</b> pH alcalino
<b>t1</b>	69,0	80,8	85,7	87,2	87,8	86,5
<b>t3</b>	70,8	80,7	87,7	88,5	87,7	86,3
<b>t6</b>	81,6	79,5	88,3	88,8	87,5	87,2
<b>t12</b>	78,5	79,8	89,2	89,2	89,2	89,2

**Tabela 6.** Rendimentos comparativo de extração em meio ácido e alcalino.

Tempo (h)	Rendimento % comparativo de extração em meio ácido e alcalino.		
	<b>PRO 1 X PRO 2</b>	<b>PRO 3 X PRO 4</b>	<b>PRO 5 X PRO 6</b>
<b>t1</b>	74,9 <sup>b</sup>	86,4 <sup>b</sup>	87,2 <sup>b</sup>
<b>t3</b>	75,7 <sup>b</sup>	88,1 <sup>b</sup>	87,0 <sup>b</sup>
<b>t6</b>	80,6 <sup>a</sup>	88,6 <sup>a b</sup>	87,3 <sup>b</sup>
<b>t12</b>	79,2 <sup>a</sup>	89,2 <sup>a</sup>	89,2 <sup>a</sup>