

ESTUDO COMPARATIVO SOBRE A EFICIÊNCIA DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DOS POLIFENÓIS DO CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*)

LAGO, Denice Frota do¹; PAULA, José Realino de²; BARA, Maria Teresa Freitas³

Palavras-chave: chá verde, polifenóis, extração sob refluxo; extração sob ultrasson.

1. INTRODUÇÃO

As análises de matérias-primas de origem vegetal ou de medicamentos à base de plantas (fitoterápicos) envolvem atividades complexas, visto que uma planta possui um fitocomplexo, constituídos de diversas substâncias ativas e outras secundárias (inertes), que podem interferir na análise dos princípios ativos (CAPASSO et al., 2000; WILLIAMSON, 2001).

Os chás são ricos em compostos biologicamente ativos (flavonóides, catequinas, polifenóis, alcalóides, vitaminas, sais minerais) que contribuem para a prevenção e o tratamento de várias doenças (SCHMITZ et al., 2005). Uma planta que tem sido muito usada atualmente em formulações fitoterápicas é o chá verde, *green tea*, banchá ou chá da Índia. Figura 1 (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze), pertencente à família Theaceae. Suas folhas contêm cerca de 30% compostos polifenólicos. Os flavonóides e as catequinas (Figura 2) são os principais componentes químicos terapêuticos da planta *C.sinensis*, sendo potentes antioxidantes, sequestradores de radicais livres, quelantes de metais e inibidores da lipoperoxidação (SCHMITZ et al., 2005).



Figura 1-*Camellia sinensis*

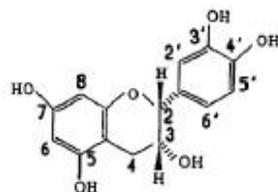


Figura 2- Estrutura química da catequina

Os vegetais superiores sintetizam e acumulam uma grande diversidade de compostos fenólicos (SANTOS e BLATT, 1998). Fatores abióticos naturais como irradiação solar, luz UV, seca, nutrientes e estações do ano influenciam no metabolismo e na produção destes compostos (WATERMAN e MOLE, 1988). Nas etapas de extração e quantificação de princípios ativos de origem vegetal, a fase de preparo das amostras é a mais importante no desenvolvimento de métodos analíticos.

Deve-se ressaltar as etapas principais dos processos extrativos, a penetração do solvente nas células, a dissolução das substâncias extraíveis e a difusão da solução

para fora da célula vegetal, a Influência da divisão da droga; agitação durante o processo, para buscar o equilíbrio de saturação do solvente e assim maior eficiência; a temperatura, o pH; a natureza do solvente devem ser considerados (SHARAPIN, 2000). Alguns trabalhos relatam os efeitos do ultrassom (sonicação) na obtenção de extratos de plantas medicinais, embora esta técnica ainda tem sido muito explorada.

2. METODOLOGIA

A amostra de chá verde foi adquirida de fornecedor idôneo, acompanhada de laudo de certificação e a identidade da amostra, foi realizada através da pesquisa qualitativa de fenóis totais com soluções de FeCl_3 2% e Acetato de Cobre 4%.

2.1 Método analítico original que baseia no método espectrofotométrico de Hargerman & Butler, para o doseamento de fenóis totais, descrito por Waterman & Mole (1994): Pesou-se 1,0 g da amostra, adicionou-se 150mL de H_2O destilada. Aqueceu até a fervura e manteve em banho-maria à 80 . 90 °C por 30 minutos. Transferiu-se para um balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com H_2O destilada. Filtrou-se através de algodão. As análises foram realizadas em triplicata.

2.2 Método alternativo, onde a extração será sob sonicação: Pesou-se 1,0 g da amostra, adicionou-se 150mL de H_2O destilada. Levou-se o erlenmeyer tampado em banho ultrassom por 15, 30 e 60 minutos. Transferiu-se para um balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com H_2O destilada. Filtrou-se através de algodão. As análises foram realizadas em triplicata.

2.3 Doseamento dos fenóis totais: Adicionou-se em um tubo de ensaio 2 mL de solução de LSS/trietanolamina, 1 mL de solução cromogênica de FeCl_3 e 1 mL das respectivas soluções-amostras. Após 15 minutos, faz-se a leitura da absorvância em 510 nm. Este ensaio foi feito em triplicata. Branco: Em um tubo de ensaio adicionou-se 2 mL de solução de LSS/Trietanolamina, 1 mL de solução de FeCl_3 e 1 mL de água destilada. O cálculo de teor de polifenóis está expresso abaixo:

$$\text{Teor de fenóis totais na amostra (\%FT)} = \frac{\text{Concentração (em microgramas)} \times \text{Fator de diluição}}{(\text{massa em g}) \times 100 \times 10^{-3}}$$

2.4 Curva de calibração: A partir de uma solução 1 mg/mL de ácido tânico foram preparadas diluições de 0,2 a 0,6mg/mL. Transferiu-se para um tubo de ensaio contendo 2 mL de solução de LSS/ Trietanolamina, 1 mL de solução de FeCl_3 e completou-se o volume para 4,0 mL com água destilada. Após por 15 minutos, fez-se a leitura da absorvância em 510 nm. Construiu-se uma curva de calibração: absorvância x concentração.

2.5 Análise dos resultados: na análise dos resultados de teor de polifenóis pelos métodos utilizados realizou-se a análise de variância com 95% de confiança e teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Pesquisa de fenóis totais:

A amostra de chá verde utilizada apresentou fenóis, nas duas reações qualitativas utilizadas.

3.2 Comparação da eficácia entre os métodos de extração:

Foram obtidos resultados estatisticamente diferentes entre os métodos empregados na quantificação dos polifenóis do chá. Em relação aos métodos C e D, a eficiência de extração foi menor que A e B (Tabela 1).

Tabela 1. Teores de polifenóis do chá verde, obtidos por quatro métodos extrativos.

Tempo (em min.)	Método Hagermam & Butler	Método de extração sob sonicação		
	30 (A)	15 (B)	30 (C)	60 (D)
Teor de fenóis totais (%)	25,46	28,4	18,68	20,30
	25,46	27,2	18,90	19,20
	26,098	27,90	18,80	19,30
Média dos teores (de cada método)	25,67	27,83	18,79	19,60
Coeficiente de variância (CV - %)	1,43	2,17	0,59	4,15

Observou-se que o método de extração sob sonicação por 15 minutos mostrou-se vantajoso na quantificação dos polifenóis do chá verde quando comparado ao método analítico de Hagerman & Butler, para o doseamento de fenóis totais, descrito por Waterman & Mole (1994), devido oferecer menor tempo de extração e maior praticidade e eficiência. As variações dos teores encontrados em cada grupo estão de acordo com a legislação estabelecida pela ANVISA, que é abaixo de 5%.

3.3 Curva de calibração: Os valores das absorbâncias foram {0,231; 0,372; 0,447; 0,589; 0,703} correspondentes, respectivamente, às concentrações de 0,2 a 0,6mg/mL. Encontrou-se a equação $Y = 1,161X + 0,004$, com $R = 0,99668$ (Figura 3).

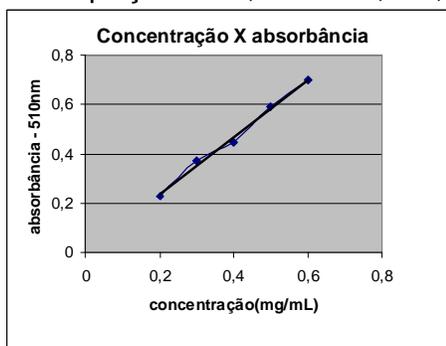


Figura 3- Curva de calibração para quantificação dos polifenóis do Chá verde

3.4 Análise dos resultados: Ao nível de significância de 5% constatou-se que há diferença da eficiência de extração de fenóis do chá verde entre os métodos propostos. Foi possível verificar que o método B obteve maior eficiência que os outros e que o método A é diferente dos demais. Apesar dos métodos C e D serem semelhantes entre si, são inferiores quando comparados a A e B.

4. CONCLUSÃO

Concluí-se que o método alternativo sob sonicação à 15 minutos pode ser uma alternativa ao método analítico original - Waterman & Mole(1994) para a extração dos polifenóis do chá verde.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- PRADO, C. C.; ALENCAR, R. G; PAULA, J. R; BARA, M. T. F. Avaliação do teor de polifenóis do chá verde. *Camellia sinensis*. *Revista Eletrônica de Farmácia, Suplemento*. v.2, n. 2, p. 164-167, jun 2005.
- SANTOS, M. D.; BLATT, C. T. T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*. v. 21 n. 2, p.135-140, Ago. 1998.

LAGO, Denice Frota do; Paula, Jose Realino de.; BARA, Maria Teresa Freitas. Estudo comparativo sobre a eficiência de métodos de extração dos polifenóis do chá verde (*Camellia sinensis*). **Anais eletrônicos da XV Semana Científica Farmacêutica**, Goiânia: UFG, 2007. n.p.

SCHMITZ, W.; YUKIO, A.; ESTEVÃO, D.; SARIDAKIS, H. O. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. *Semina . Revista cultural e científica da Universidade de Londrina: Ciências Biológicas e da Saúde*. v. 26, n. 2, p.119-130, jul./dez. 2005.

SHARAPIN, N. *Fundamentos de Tecnologia de Produtos Fitoterápicos*. Santafé de Bogotá . COLÔMBIA, CYTED, 2000.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1994.

¹ Aluna de iniciação científica, Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais (LPPN/FF/UFG)

² Professor do LPPN/FF/UFG

³ Orientadora/ LPPN/FF/UFG