

4.03.99 – Farmácia

DESENVOLVIMENTO E CONTROLE DE QUALIDADE DE CÁPSULAS DE CAFÉ VERDE COMBINADO COM EXTRATO SPRAY-DRYER DE PRÓPOLIS VERMELHA E OUTROS ANTIOXIDANTES

Arthur Luy T. F. Borges¹, Mailde J. L. dos Santos², Marianna P. Brandão³, Fernanda F. Alves⁴, Marianna Melles Damiani Farias⁵, João Victor Lessa de Oliveira⁶, Ticiano G. do Nascimento⁷

1. Mestrando do PPGCF/ESENFAR-UFAL

2. Mestranda do PPGCF/ESENFAR-UFAL

3. Graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Alagoas - UFAL

4. Graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Alagoas – UFAL

5. Graduada em Biomedicina UNIP/GO e aluna especial do PROFNIT/UFAL

6. Estudante de IC da Escola de Enfermagem e Farmácia da UFAL

7. Professor Dr. do PPGCF/ESENFAR-UFAL – Orientador

Resumo

O café verde possui como seu mais abundante constituinte o ácido clorogênico (ACGs) que exibiu muitas atividades biológicas, tendo uma grande atividade antioxidante, anticancerígeno e no controle da obesidade. O presente trabalho tem como finalidade a produção de cápsulas de café verde com diferentes constituintes associados (própolis vermelha, maracujá e castanha do Pará) e desenvolver ensaios de controle de qualidade para as mesmas. Após a preparação do pó de café verde as composições foram preparadas por mistura simples com demais ingredientes e encapsuladas em cápsulas de gelatina dura, sendo submetidas a análise do seu peso médio, doseamento de ACGs e ácido caféico, análise termogravimétrica, atividade antioxidante e perfil de dissolução. As diferentes composições de cápsulas de café verde obtiveram conformidade quanto ao peso médio e doseamento, obtendo grande atividade antioxidante, apresentando estabilidade térmica adequada e fácil dissolução em meio aquoso e fluido gástrico.

Palavras-chave: Ensaio de dissolução; Termogravimetria; Ácido clorogênico.

Apoio financeiro: UFAL, CNPq e CAPES.

Trabalho selecionado para a JNIC: Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Introdução

O café é um dos mais valiosos produtos comercializados a nível mundial, sendo apenas superado pelo petróleo em termos de movimentações financeiras. Assim, torna-se indiscutível a importância do café na política e na economia de muitos países, pois o seu cultivo, processamento, comercialização, transporte e mercado criam milhões de empregos (VIEIRA, 2015). O grão do café é uma fonte primária de antioxidantes, tendo sua composição responsável por essa propriedade, apresentando assim: cafeína, polifenóis, incluindo ácidos clorogênicos, compostos voláteis e heterocíclicos (MOREIRA, 2013; VIEIRA, 2015). Outros compostos bioativos presentes no café são: ácido nicotínico, trigonelina, ácido tânico e cafeína, (FROST-MEYER; LOGOMARSINO, 2012; MOREIRA et al., 2013). Os ACGs, por sua vez, demonstram ter potenciais efeitos benéficos ao homem, entre elas, hipotensores e antioxidantes. Os ACGs e caféico apresentam ainda propriedades antimutagênicas, anticancerígenas, antioxidantes e anti-inflamatórias, proporcionando ainda, ao organismo, componentes fundamentais na regulação do metabolismo e ativação de enzimas cruciais para um crescimento e desenvolvimento saudável. Elementos presentes no café verde como o cálcio, magnésio e potássio, também contribuem para os seus benefícios à saúde (VIEIRA, 2015).

Estudos fisiológicos realizados em ratos comprovaram que o extrato de café verde apresentou atividade inibitória na absorção de gordura e suprimiu o metabolismo de gordura no fígado, contribuindo para a redução do peso corporal dos ratos. Além disso, também foi verificado um efeito anti-hipertensivo após a administração do extrato, podendo durar por até 24 horas (STELMACH et al., 2015). Segundo Cho (2010), um estudo epidemiológico mostrou que o café está inversamente relacionado ao risco de desenvolvimento de doenças crônicas, como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e câncer.

O uso de fitoterápicos vem crescendo ao longo dos anos e novos métodos e ensaios de controle de qualidade se faz necessário para padronização destas composições. O presente trabalho tem como finalidade a produção de cápsulas de café verde com diferentes constituintes associados (própolis vermelha, maracujá e castanha do Pará), e desenvolver ensaios de controle de qualidade para as mesmas.

Metodologia

OBTENÇÃO E MOAGEM DE GRÃOS DE CAFÉ VERDE

Os grãos de café verde foram obtidos em uma empresa parceira (GOLD CAFÉS LTDA) e moídos em moinho TE-631 TECNAL com 18.000 RPM por 2.1 minutos e uma segunda moagem com 18.000 rpm por 1.1 minutos.

COMPOSIÇÕES E PREPARO DAS CÁPSULAS

Foi estabelecido a quantidade de 60 cápsulas, suficiente para 30 dias. Em seguida foi estabelecido a quantidade de café verde e dos demais constituintes para gerar 4 formulações distintas, sendo estas: 500 mg de café verde; 400 mg de café verde + 100 mg de micropartículas de própolis vermelha; 400 mg de café verde + 100 mg de micropartículas de maracujá; 450 mg de Café verde + 50 mg de castanha do Pará. O encapsulamento foi realizado em um tablado manual com capacidade de 120 cápsulas.

PESO MÉDIO

Para a determinação do peso médio de cápsulas duras foi seguido as normas estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira (2010).

VALIDAÇÃO DO MÉTODO

A validação do método foi realizada a partir da RDC - Nº 899, de 29 de maio de 2003, onde, foi preparado a curva analítica do ACGs e caféico a partir de seus padrões analíticos.

DOSEAMENTO

O doseamento dos ACGs e caféico realizou-se com a solubilização do conteúdo de uma cápsula em 100 mL de água osmose reversa, 60 minutos em um agitador magnético e posteriormente filtrada, obtendo uma solução de 5,0 mg/mL realizando ainda, uma diluição para atingir a concentração final de 0,1 mg/mL. A solução foi quantificada em um espectrofotômetro UV-Vis em comprimento de onda de 322 nm.

ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH

Após o preparo da solução de DPPH (0,04 g/mL) em etanol, foi solubilizado o conteúdo de uma cápsula em 100 mL de etanol 70%. A amostra foi colocada no ultrassom por trinta minutos, filtrada, resultando uma solução de 5,0 mg/mL.

Retirou-se volumes determinados do extrato, adicionou-se 2 mL de DPPH para balão de 5 mL, aferindo seu volume com etanol, obtendo assim as concentrações desejadas. Após 30 min de repouso protegido da luz foi medida sua absorbância mediante leitura no espectrofotômetro UV-Mini 1240 em modo fotometria com comprimento de onda (λ) de 518 nm.

ANÁLISE TÉRMICA: TERMOGRAVIMETRIA (TG)

A análise foi realizada no analisador térmico TGA-50 utilizando os gases nitrogênio e ar sintético com fluxo de 50 mL/min. Foi pesado em um cadinho 6 mg da formulação, onde, a rampa de aquecimento teve uma variação de temperatura de 25 °C a 900 °C com crescimento de 10 °C/min.

PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS DE CAFÉ VERDE COM ANTIOXIDANTES

O estudo foi realizado utilizando dissolutor Agilent Technologies 708 - DS de oito cubas. Para dissolução foram utilizados dois meios (água osmose reversa e ácido clorídrico 0,1M), utilizou-se, para os dois meios, temperatura de 37 °C, aparato pá em rotações de 100 rpm e cubas contendo 500 mL do meio. Foram realizadas coletas de 5,0 mL em 1 h, 2 h, 3 h, 4 h e 6 h. A solução coletada foi filtrada, diluídas 1 mL para balão de 10 mL e submetidas a espectroscopia a 322 nm.

Resultados e Discussão

PESO MÉDIO

O resultado do peso médio das cápsulas avaliadas: cápsulas de café verde isolado (CV); café verde mais micropartículas de própolis vermelha (CVPV); café verde mais micropartículas de maracujá (CVM); e café verde mais castanha do Pará (CVCP). Encontram-se em conformidade com as especificações da 5ª edição da Farmacopeia Brasileira (2010) apresentando valores médios de 0,498 e 0,500 gramas.

VALIDAÇÃO DO MÉTODO

Para se obter os dados quantitativos das cápsulas de CV, CVPV, CVM e CVCP em estudo, foram construídas curvas analíticas do ácido caféico e do ácido clorogênico com R^2 maiores que 0,99. A partir da curva foram feitos cálculos estatísticos para verificar a precisão e exatidão do método.

DOSEAMENTO

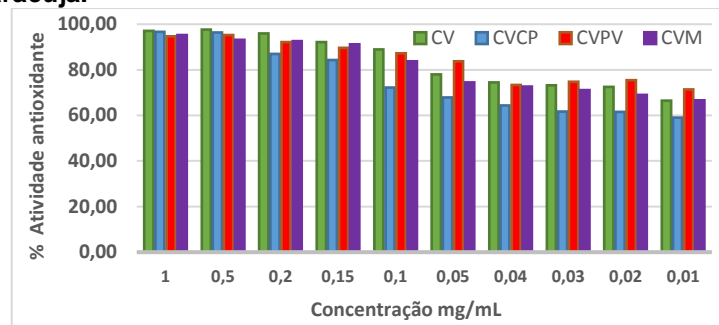
Os resultados mostram os teores de ácido caféico e ácidos clorogênicos presente nas cápsulas de CV, CVCP, CVPV e CVM, obtendo concentrações médias, para o ácido caféico, de 21,57; 19,50; 19,12 e 16,57 mg/500 mg da cápsula, respectivamente. Para os ácidos clorogênicos, concentrações médias de 43,28; 39,26; 38,51 e 33,57 mg/500 mg da cápsula, respectivamente, obtendo estes, teores similares ao estudo de Clarke e Macrae (1989 *apud* MOREIRA, 2013) entre 7 -10 g/100 g de café verde.

ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE POR DPPH

Observa-se que a formulação CVCP apresentou percentual de atividade antioxidante mais elevado, em

concentrações mais baixas que as demais evidenciando que essas composições podem atuar por mais tempo ou em menor concentração que CV, CVCP, CVM. A exacerbação da atividade antioxidante na formulação deve-se provavelmente, a associação entre o café verde e as micropartículas de própolis vermelha que apresentam também outras substâncias fenólicas com propriedades antioxidantes, além das substâncias presentes no café verde conhecidas como derivados do ácido clorogênico. Segundo Farah & Donangelo (2006) as propriedades redutoras e estrutura química dos compostos fenólicos caracterizam sua atividade antioxidante sendo importante na neutralização de radicais livres e na quelação de metais de transição. Em contrapartida as formulações CVCP e CVM não tiveram um aumento significativo, em concentrações menores, comparando com as formulações CV e CVPV, evidenciando a pouca atividade antioxidante da castanha do Pará e do maracujá (Gráfico 1).

Gráfico 1: Comparação entre os percentuais da atividade antioxidante das cápsulas de café verde isolado, café verde + castanha do Pará, café verde + micropartícula de própolis vermelha e cápsulas de café verde + micropartícula de maracujá.



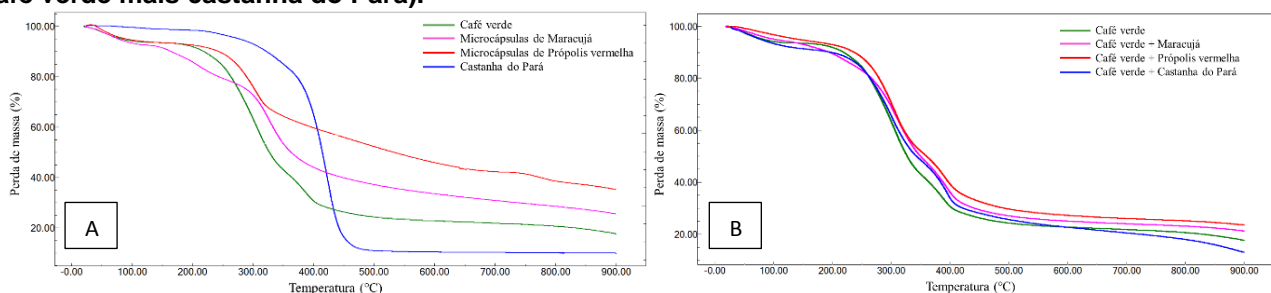
Fonte: Próprio auto.

ANÁLISE TÉRMICA: TERMOGRAVIMETRIA (TG)

De acordo com a Figura 2: no gráfico A foi observado que a castanha do Pará (CP) obteve uma maior proteção térmica em relação as demais tendo seu início de perda de massa em uma temperatura superior aos outros compostos. Em contrapartida as micropartículas de maracujá (MM) obtiveram um início de perda de massa em uma temperatura menor, sendo assim, o composto com menor estabilidade térmica.

No gráfico B foi observado que a formulação CVPV obteve uma maior proteção térmica em relação as demais, esta formulação obteve o início da perda de massa em uma temperatura superior as outras formulações, sendo esta, a formulação mais estável. Em contrapartida a formulação CVM obteve início da perda de massa em uma temperatura menor que as demais, tornando-a assim, a formulação com menor estabilidade, evidenciando a pouca estabilidade térmica do composto MM associado a esta formulação.

Figura 2: Comparação da perda de massa, tendo, em A os compostos associados as cápsulas de café verde (micropartículas de própolis vermelha; micropartículas de maracujá e castanha do Pará em comparação ao café verde isolado) e em B a perda de massa das formulações (cápsulas de café verde; café verde mais micropartículas de própolis vermelha; café verde mais micropartículas de maracujá; e café verde mais castanha do Pará).



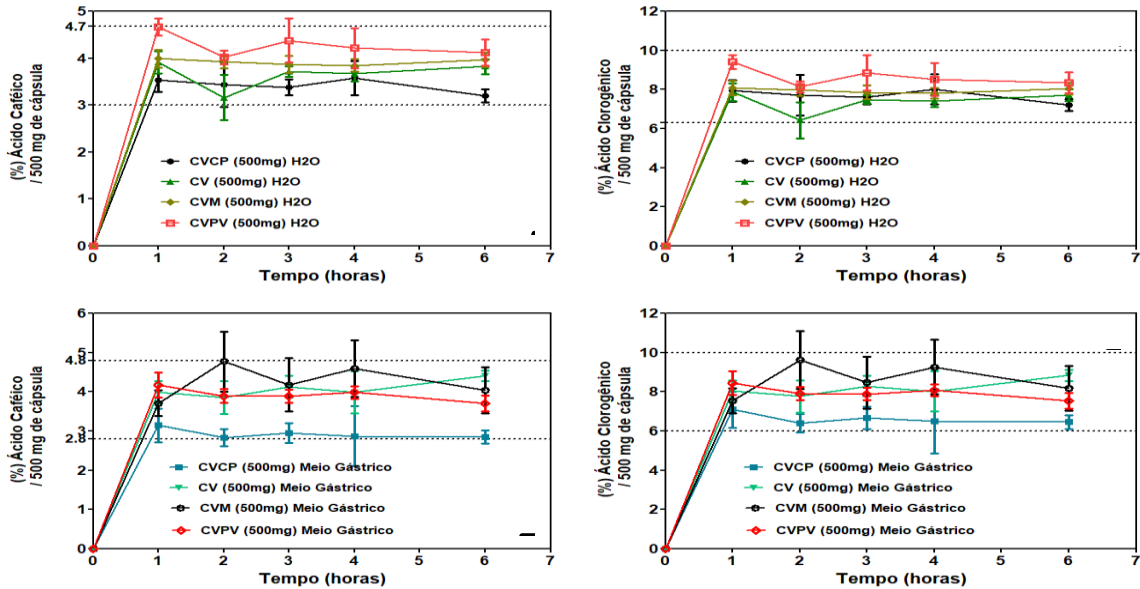
Fonte: Próprio autor.

PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS DE CAFÉ VERDE

Observou-se que a dissolução do ácido caféico e do ácido clorogênico presentes nas cápsulas de café verde foi rápida com liberação máxima na primeira hora do processo de dissolução, mantendo a concentração estável durante o decorrer de toda a análise para os dois meios estudados.

As cápsulas de CV e CVPV obtiveram porcentagens mais constantes tanto em água quanto em meio gástrico simulado para os dois ácidos, clorogênico e caféico, mostrando assim que o meio de dissolução, água osmose reversa, pode ser definido como melhor meio de dissolução para estudos de liberação de ácidos fenólicos e derivados clorogênicos (Figura 3). Garambone (2007), realizou um estudo para verificar a absorção de ácidos fenólicos em voluntários saudáveis após consumo de café, encontrando alta concentração de ácido caféico no plasma, tendo seu pico máximo de absorção em 1 h, sendo o mesmo, provavelmente, oriundo da hidrólise do ácido clorogênico pela ação de esterases intestinais ou pela própria microbiota. Os dados de dissolução revelam que o ácido caféico e os derivados do ácido clorogênico são compostos de fácil solubilização em água e em meio gástrico, se mantendo estáveis em solução aquosa e nos fluidos gastrointestinais no período de 6 horas, intervalo suficiente para que ocorra sua absorção pelas membranas biológicas.

Figura 3: Perfil de dissolução do ácido caféico e ácido clorogênico presente nas cápsulas de café verde em água (H₂O) e meio gástrico simulado.



Fonte: Próprio autor.

Conclusões

Conclui-se com o presente trabalho que o desenvolvimento de cápsula de café verde juntamente com outros compostos (própolis vermelha, maracujá e castanha do Pará) obteve êxito, obtendo conformidade quanto ao peso médio e doseamento, apresentando teores adequados de ácidos fenólicos, entre 16,0 e 21,0 mg de ácido caféico e 33,0 a 43,0 mg de ácido clorogênico por cápsula de 500 mg quando determinado por espectrofotometria do UV-vis.

As diferentes composições de cápsulas de café verde possuem uma grande atividade antioxidante atingindo níveis superiores a 90% em concentrações entre 1,00 e 0,10 mg/mL e níveis superiores a 60% nas menores concentrações, tendo ainda, todas as formulações, estabilidade térmica adequada para seu transporte e estocagem a temperatura ambiente, assim como, fácil dissolução pelos meios aquosos e biológicos em intervalo de tempo suficiente para que ocorra absorção pelas membranas biológicas.

Referências bibliográficas

- CHO A.S. et al. **Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet induced obese mice**. *Food and Chemical Toxicology*.v.48, p.937-943, 2010.
- CLARKE, R. J.; MACRAE, K. (Ed.). **“Coffee Vol 2”**. London: Elsevier, 1989.
- FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal Plant of Physiology**, Londrina, v.18, n.1, p.23-36, June/Mar., 2006.
- FROST-MEYER, Nancy J.; LOGOMARSINO, John V. Impact of coffee components on inflammatory markers: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 4, p. 819-830, 2012
- GARAMBONE, E., ROSA, G. Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara v.18, n.2, p. 229-235, abr./jun. 2007.
- MOREIRA, Maria Eliza de Castro. **Avaliação do potencial farmacológico de café (Coffea arabica L.) verde e torrado**. 2013. 114 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). PRPG, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Minas Gerais, 2013.
- STELMACH, Ewelina; POHL, Pawel; SZYMCZYCHA-MADEJA, Anna. The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. **Food chemistry**, v. 182, p. 302-308, 2015.
- VIEIRA, Liliana do Céu Gomes. **Características fitoquímicas e propriedades antioxidantes do grão de café verde**. 2015. 53 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.