

Determinação de Guaco em Mel por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Determination of Guaco in Honey by High Performance Liquid Chromatography

¹Caparica, S. C.;
^{2*}Marcucci, M. C.

¹Natural Labor - Análises e Pesquisas Ltda. Rua Lauro Vanucci, 1020, Jardim Santa Cândida, 13087-548, Campinas, SP, Brasil.

²Laboratório de Produtos Naturais do Programa de Pós-graduação em Farmácia da Universidade Bandeirante de São Paulo, UNIBAN, Rua Maria Cândida, 1813, CEP-02071-013, Vila Guilherme, São Paulo, SP, Brasil.

*Correspondência:
E-mail: crismarcucci@naturalab.com.br

Unitermos

Mikania glomerata, mel, cumarina, CLAE-DAD.

Key words

Mikania glomerata, Honey, Coumarin, DAD-HPLC

Resumo

O guaco (*Mikania glomerata*) é uma planta originada do Brasil e é conhecida por suas propriedades expectorantes. O Departamento de Inspeção Federal de Produtos de origem Animal (DIPOA) vinculado ao Ministério da Agricultura, publicou uma resolução de 19/06/2003, relativa a méis compostos com extratos vegetais, em concomitância à resolução RDC 48 da ANVISA, que regulamenta o uso de extratos vegetais. Estas considerações levaram à necessidade de se elaborar procedimentos analíticos para este controle de qualidade, baseados na literatura. Foi então desenvolvida uma metodologia para determinar a presença de cumarina (marcador químico do guaco) em méis compostos, empregando-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com um detector de rede de diodos. Este método foi considerado adequado para a determinação da cumarina do guaco em méis comerciais contendo extratos de *Mikania glomerata*.

Abstract

The guaco (*Mikania glomerata*) is a plant originated from Brazil that is known by its expectorant properties. The Department of Inspection of Products from Animal Origin, linked to the Agricultural Ministry of Brazil, has made a resolution on 19/06/2003, related to honey that have vegetal extracts aggregated to it. Also, the Sanitary Vigilance National Agency of Brazil (ANVISA) has made a public consult in 06/11/03 regarding to the regulation of products for phytotherapeutic products. These considerations take into account the necessity of to elaborate legal rules and legal analytic procedures based on scientific literature. These considerations led us to develop a methodology to detect the coumarin in honey that has guaco aggregated to it. The method uses a High Performance Liquid Chromatography with diode-array detector equipment. This method may be a reliable qualitative method to detect and quantify the guaco coumarin in commercial honey claiming to have *Mikania glomerata* plant extract in them.

Introdução

Dentro do Ministério da Agricultura, o DIPOA é o departamento encarregado de inspecionar produtos de origem animal. Os produtos



elaborados pelas abelhas, tais como mel, própolis, pólen e geléia real se enquadram entre estes produtos. Sendo assim, existe um consenso sobre a necessidade de orientar produtores no sentido de garantir a segurança do consumidor e a qualidade do produto. Dentro do nicho em que se insere o mel, surge uma nova categoria referente aos méis que possuem extratos vegetais com caráter fitoterápico agregado a eles. Dentro desta categoria se encontram os chamados méis compostos tais como: Mel com guaco, mel com geléia real, Mel com eucalipto, etc. Embora já exista uma legislação que trate dos requisitos básicos para controle de mel, só agora surge a necessidade de se criar normas que orientem os produtores destes méis compostos. O DIPOA publicou uma resolução em 19/06/2001 em que se levanta a necessidade de se elaborar métodos analíticos específicos baseados em literatura científica (DIPOA, 2003). Nesta Resolução N^o 01, o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura tece uma série de considerações referentes à necessidade de se efetuar um controle de qualidade de méis que apresentem extratos vegetais agregados a eles (méis compostos).

Estas considerações levam em conta a necessidade de se elaborar uma regulamentação legal específica para estes produtos e procedimentos analíticos padronizados baseados na literatura científica. Tendo em vista estas necessidades foi desenvolvido um método que permite a detecção da cumarina (substância marcador químico do guaco) em Mel com guaco. As determinações foram feitas em um equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção com luz UV. A metodologia é bastante simples, permitindo detectar as substâncias consideradas benéficas para a saúde de forma inequívoca em três amostras de Mel com guaco.

O guaco (*Mikania glomerata* Spreng.) é uma planta originária do Brasil que se desenvolve bem em locais com clima ameno como o clima da região Sul e o clima de boa parte do Sudeste. O nome do gênero *Mikania* foi dado em homenagem ao botânico Mikan, de Praga, morto em 1814 e os efeitos terapêuticos do guaco são amplamente conhecidos há longo tempo (CORRÊA, 1984); como erva recomendada na forma de chás e xaropes

expectorantes, graças à sua riqueza em cumarina (FARMACOPÉIA, 1996). Celeguini et al. (2002) já identificaram e quantificaram a cumarina em extratos de guaco, empregando a CLAE.

Materiais e Métodos

Reagentes

Metanol grau HPLC e acetonitrila foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Germany). O padrão certificado de cumarina foi adquirido do LabSynth Produtos para Laboratórios Ltda. (Diadema -SP, Brazil). As soluções estoque de cumarina foram feitas em metanol.

Preparação da amostra de mel

Uma amostra de mel contendo extrato de guaco (Apiários Baldoni) na quantidade de 2 g (± 0.5) foi acondicionada em um tubo de vidro, misturada com 10 mL de água e agitada até que o mel fosse dissolvido.

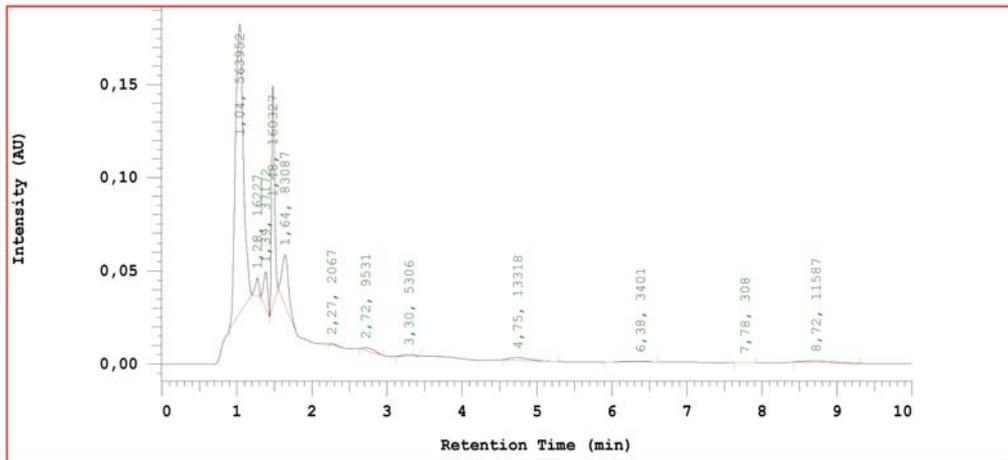
Condições cromatográficas

O sistema cromatográfico LaChrom L-7000 HPLC consistiu de uma bomba L-7100, forno de coluna da Merck Hitachi L-7300 e interface D-7000, equipada com um amostrador automático L-7200 e um detector de rede de diodos L-7455, pré-coluna Lichro CART[®] 4-4 LiChrospher[®] RP-18. Os dados foram coletados e integrados através do programa Chromatography Data Station Software-HSM-Syst.1- Merck, versão 4.1. As condições de análise, foram: coluna 125 x 4 mm I.D. LiChro CART[®] LiChrospher[®] 100 RP-18 (5 μ m) da Merck (Darmstadt, Germany), fase móvel: Metanol-Acetonitrila (60:40 v/v) e fluxo de 1,0 mL/min; volume de injeção de 20 μ l, com detecção em 274 nm.

Resultados e Discussão

Para verificar a adequação dos procedimentos analíticos, foram injetadas amostras de mel consideradas como "branco". A figura 1 mostra um cromatograma típico obtido na análise. Pode-se observar que não há a interferência de picos co-eluído com a cumarina (tempo de retenção de 3,0 minutos).

Figura 1 - Cromatograma típico em CLAE para uma amostra de mel, nas condições descritas.



Para a detecção da cumarina, foi construída uma curva padrão de calibração ($A = 3555 C$, $R^2 = 0,9963$; $A =$ Área do pico e $C =$ concentração em mg/mL). Os cromatogramas das três amostras de méis comerciais

contendo extrato de guaco são mostrados nas Figuras 2, 3 e 4. A quantidade média de cumarina identificada em méis foi de 0,05%. A coluna foi lavada com água após cada série injetada.

Figura 2 - Cromatograma obtido de uma amostra de mel contendo extrato de folhas frescas de guaco, indicando o tempo de retenção da cumarina (t_R 2,95 min).

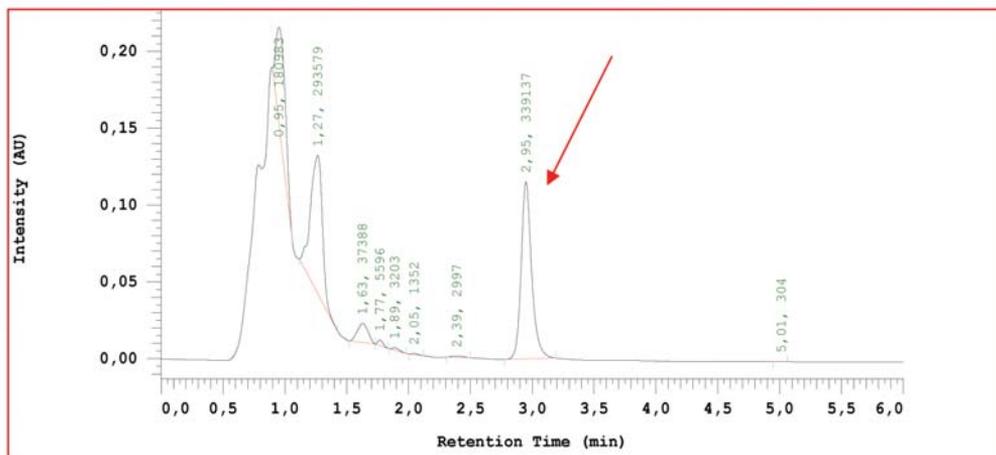


Figura 3 - Cromatograma obtido de uma amostra de mel contendo extrato de folhas secas de guaco, indicando o tempo de retenção da cumarina (t_R 2,95 min).

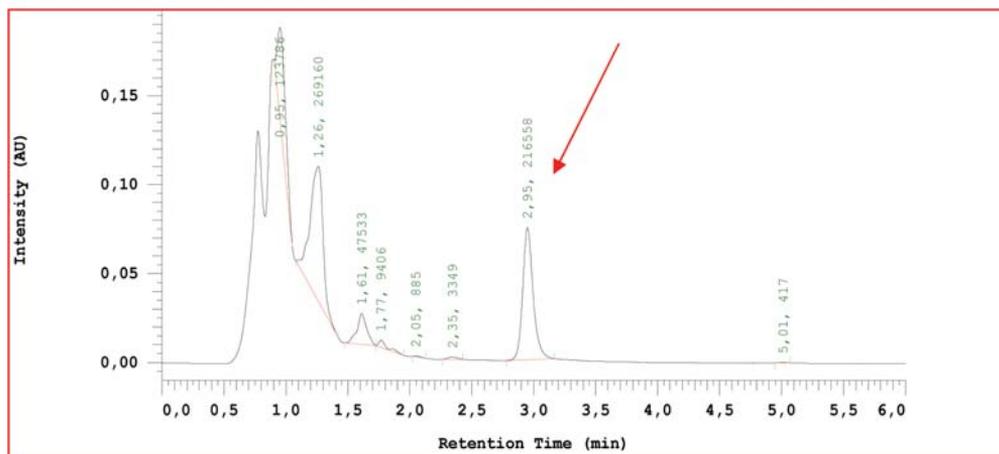
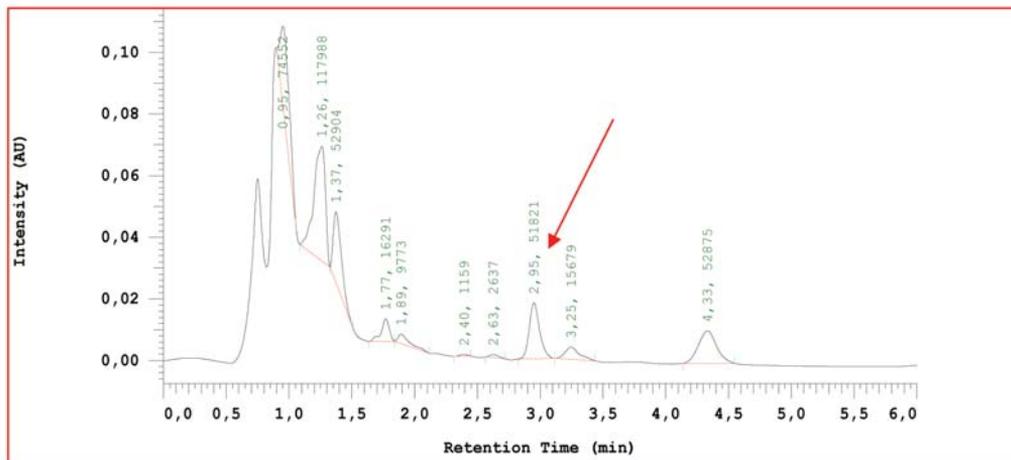


Figura 4 - Cromatograma obtido de uma amostra de mel contendo guaco e agrião, indicando o tempo de retenção da cumarina (2,95 min).



Como características analíticas: em 274 nm, a faixa de calibração foi linear até 20 mg / mL ($r^2=0.99$, pelo menos). O limite de detecção, calculado para uma amostra de 2 g de mel em um volume final volume de 10 mL, foi sempre menor do que 10 mg/L. Nos cromatogramas, embora aparentemente haja uma quantidade de substâncias co-extraídas, a fase móvel metanol-acetonitrile (60:40, v/v) foi adequada para a determinação da cumarina em mel.

Agradecimentos

Ao CNPq-RHAE pela bolsa concedida a C. C. Santos.

Referências

1. CELEGHINI, R.M.S.; VILEGAS, J.H.Y.; LANCAS, F.M. Extraction and Quantitative HPLC Analysis of Coumarin in Hydroalcoholic Extracts of Mikania glomerata Spreng: ("guaco") Leaves. Journal of the Brazilian Chemical Society, v.12, n.6, p.706-709, 2002.
2. CORRÊA, P. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas, 2a ed., Ed. Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura: Rio de Janeiro; 1984.
3. DIPOA: Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Ministério da Agricultura, Portaria n.º 11 de 19/06/2003.
4. FARMACOPÉIA: Farmacopéia Brasileira. 4a ed. São Paulo: Atheneu, 1988-1996.