

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM **PROCESSOS QUÍMICOS**

ANA LUIZA MARANGONI CASTRO

MARIANA MARQUES MORELLI

MARYANA EDUARDA GRABER

**INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DA CAFEÍNA EM “CHÁS”  
(INFUSÕES)**

CAMPINAS/SP  
2024

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM **PROCESSOS QUÍMICOS**

ANA LUIZA MARANGONI CASTRO

MARIANA MARQUES MORELLI

MARYANA EDUARDA GRABER

**INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DA CAFEÍNA EM “CHÁS”  
(INFUSÕES)**

Trabalho de Graduação II apresentado por **Ana Luiza Marangoni Castro, Mariana Marques Morelli e Maryana Eduarda Graber**, como pré-requisito para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, da Faculdade de Tecnologia de Campinas, elaborado sob a orientação da **Prof. Dra. Fabiana Cristina Andrade Corbi**

CAMPINAS/SP  
2024

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
**CEETEPS - FATEC Campinas - Biblioteca**

M842i

MORELLI, Mariana Marques

Investigação da presença de cafeína em “chás” (infusões). Mariana Marques Morelli, Ana Luiza Marangoni Castro e Maryana Eduarda Graber. Campinas, 2024.

43 p.; 30 cm.

Trabalho de Graduação do Curso de Processos Químicos Faculdade de Tecnologia de Campinas.

Orientador: Profa. Dra. Fabiana Cristina Andrade Corbi.

1. HPLC. 2. Camellia sinensis. 3. Ervas. 4. ANVISA. 5. Ervas. I. Autor. II. Faculdade de Tecnologia de Campinas. III. Título.

CDD 641

Catologação-na-fonte: Bibliotecária: Aparecida Stradiotto Mendes – CRB8/6553

TG PQ 24.2



**Ana Luiza Marangoni Castro**

**Mariana Marques Morelli**

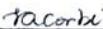
**Maryana Eduarda Graber**

## **Investigação da presença da cafeína em “chás” (infusões)**

Trabalho de Graduação apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos, pelo CEETEPS/Faculdade de Tecnologia- FATEC Campinas.

Campinas, 05 de dezembro de 2024.

### **BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Fabiana Cristina Andrade Corbi  
Fatec Campinas

  
\_\_\_\_\_  
Douglas Delaqua  
IAC -Campinas

  
\_\_\_\_\_  
Fernando de Lima Camargo  
Fatec Campinas

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradecemos a Deus, por nossas Vidas, pela benção de realizar este trabalho, pelas oportunidades, força, inspiração e o dom da Ciência a nós concedidos.

Aos nossos familiares mais íntimos e queridos por todo suporte, auxílio, carinho, dedicação, compreensão, orações, bons conselhos e Amor.

À Professora Dra. Fabiana Cristina Andrade Corbi, por ter aceitado nos orientar e acreditar em nosso potencial! Agradecemos também todos seus valiosos ensinamentos, pela paciência e tempo despendidos em toda nossa jornada pela Graduação, especialmente na elaboração deste trabalho. Também somos muito gratas pela sugestão de um tema tão interessante e enriquecedor para nossa formação na área de Química.

A todos os professores e doutores que direta ou indiretamente nos ajudaram a ter fundamentos para desbravar nossa caminhada rumo ao conhecimento e por fim, concluir esta pesquisa.

Aos amigos e colegas da faculdade e da vida, que sempre contribuem para nossa evolução acadêmica, profissional e/ou como seres humanos. Aqui, citamos ainda nossa grande gratidão ao amigo Eduardo Roque que com sua expertise nos auxiliou com o preparo do HPLC e realização das análises.

À FATEC- Campinas pela infraestrutura e profissionais de qualidade envolvidos em toda nossa formação como Tecnólogos em Processos Químicos. Ao Centro Tecnológico Paula Souza pelo investimento no Ensino Superior Público.

## **DEDICATÓRIA**

Dedicamos este trabalho aos nossos familiares mais queridos.

## RESUMO

Sabe-se que a cafeína é uma substância presente em vários alimentos e bebidas consumidos cotidianamente por muitas pessoas. Ela possui diversos efeitos no organismo humano, tais como estimulação do sistema nervoso simpático, expansão da dopamina no córtex pré-frontal, aumento dos batimentos cardíacos, tremores, irritação estomacal, ansiedade e problemas neurológicos. Consta ainda, que seu consumo moderado pode trazer variados benefícios ao corpo humano, como por exemplo, o aumento da taxa metabólica e a melhora do estado de concentração. As infusões de chá verde, chá preto e “chá” mate, são exemplos de bebidas compostas por esta substância, a qual não tem sua quantidade descrita nos rótulos das embalagens. Diante destas considerações, o presente estudo visou a investigação da presença e quantificação da concentração de cafeína em diferentes tipos de infusões (chá verde, chá preto, “chá” mate e “chá” misto de ervas -hortelã, camomila, erva-doce nacional e erva cidreira-) através de análises de amostras em triplicata para cada variedade de infusão, em HPLC-UV. Foram obtidas as seguintes concentrações: 63,329 mg/L para infusão de chá verde; 90,527 mg/L para infusão de chá preto e 30,669 mg/L para infusão de “chá” mate. Com respeito à infusão de “chá” misto, que além de conter espécies popularmente conhecidas como relaxantes, sugere em seu título comercial, a ideia de que poderia auxiliar no processo de adormecimento, verificou-se uma concentração ainda mais ínfima de cafeína: menos de 2,0 mg/L. Todos estes valores estão muitíssimo abaixo da concentração máxima diária tolerada pelo organismo humano, e até mesmo quanto à concentração máxima tolerável por dose, que seriam respectivamente de 400 mg/L e 200 mg/L. Calculou-se ainda que em 24 horas, as doses máximas de infusões dos tipos chá verde, chá preto, “chá” mate e “chá” misto suportadas na ingestão humana no que diz respeito aos efeitos adversos da cafeína, seriam de respectivamente 6,316 L, 4,418 L 13,042 L e 200 L. Pode-se concluir que apesar de as quantidades referentes às concentrações de cafeínas em cada infusão analisada serem realmente baixas quando considerado o consumo razoável das mesmas, preparadas seguindo as instruções dos respectivos rótulos, seria interessante e útil para a população que a quantidade desta importante substância fosse indicada relativo ao consumo de uma xícara de 200 mL, por exemplo (quantidade esta indicada no modo de preparo dos rótulos). Juntamente a isto, seria necessário citar no rótulo da infusão ao menos a quantidade máxima recomendada para o ser humano, podendo auxiliar justamente o poder de escolha do consumidor, tal como já é exigido pela ANVISA para suplementos de cafeína para atletas. Quanto à técnica utilizada, pode-se por fim afirmar que o HPLC-UV se mostrou um método

adequado, eficiente e de rápida execução para quantificação de cafeína em variadas infusões de ervas.

**Palavras-chave:** HPLC; *Camellia sinensis*; ervas; 1,3,7-trimetilxantina; rótulo, ANVISA.

## **ABSTRACT**

Caffeine is a substance found in many foods and beverages consumed daily by many people. It has several effects on the human body, such as stimulating the sympathetic nervous system, increasing dopamine levels in the prefrontal cortex, increasing heart rate, tremors, stomach irritation, anxiety, and neurological problems. Its moderate consumption can also bring several benefits to the human body, such as increasing the metabolic rate and improving concentration. Green tea, black tea, and mate tea are examples of beverages containing this substance, the amount of which is not described on the packaging labels. Given these considerations, the present study aimed to investigate the presence and quantification of caffeine concentration in different types of infusions (green tea, black tea, mate tea, and mixed herbal tea - mint, chamomile, fennel, and lemon balm) through the analysis of triplicate samples for each type of infusion using HPLC-UV. The following concentrations were obtained: 63.329 mg/L for green tea infusion; 90.527 mg/L for black tea infusion and 30.669 mg/L for mate “tea” infusion. Regarding the mixed “tea” infusion, which in addition to containing species popularly known as relaxants, suggests in its commercial title the idea that it could aid in the process of falling asleep, an even lower concentration of caffeine was found: less than 2.0 mg/L. All of these values are well below the maximum daily concentration tolerated by the human body, and even below the maximum tolerable concentration per dose, which would be 400 mg/L and 200 mg/L respectively. It was also calculated that in 24 hours, the maximum doses of infusions of the types green tea, black tea, mate tea and mixed tea supported in human ingestion with regard to the adverse effects of caffeine would be, respectively, 6.316 L, 4.418 L, 13.042 L and 200 L. It can be concluded that although the amounts referring to the caffeine concentrations in each infusion analyzed are really low when considering the reasonable consumption of the same, prepared following the instructions on the respective labels, it would be interesting and useful for the population if the amount of this important substance were indicated relative to the consumption of a 200 mL cup, for example (this amount is indicated in the preparation instructions on the labels). In addition, it would be necessary to state on the infusion label at least the maximum amount recommended for humans, which could help the consumer's power of choice, as is already required by ANVISA for caffeine supplements for athletes. Regarding the technique used, it can finally be stated that HPLC-UV proved to be an adequate, efficient and fast-to-perform method for quantifying caffeine in various herbal infusions.

Keywords: HPLC; *Camellia sinensis*; herbs; 1,3,7-trimethylxanthine; label, ANVISA.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fórmulas estruturais da xantina e seus derivados.....	16
<b>Figura 2</b> - HPLC Shimadzu Corporation, modelo: LC-2040C, com detecção UV a 273 nm .....	20
<b>Figura 3</b> - Infusões preparadas e aferidas.....	24
<b>Figura 4</b> - Cromatogramas dos padrões de cafeína de 2 a 15 mg/L utilizados para as análises em 273 nm.....	27
<b>Figura 5</b> - Curva de calibração de cafeína obtida através de HPLC.....	28
<b>Figura 6</b> - Análise do chá CV 10% em HPLC e suas respectivas replicatas replicatas .....	30
<b>Figura 7</b> - Análise do chá CP 10% em HPLC e suas respectivas.....	31
<b>Figura 8</b> - Análise do chá CM 10% em HPLC e suas respectivas replicatas .....	32
<b>Figura 9</b> - Análise do chá CA 10% em HPLC e suas respectivas replicatas.....	33

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Materiais, reagentes e equipamento utilizados no trabalho.....	23
<b>Tabela 2</b> - Dados referentes à curva de calibração: tempo de retenção e área do pico. ....	26
<b>Tabela 3</b> - Dados referentes as amostras de infusão analisadas .....	26
<b>Tabela 4</b> - Concentração média de cada tipo de infusão.....	29
<b>Tabela 5</b> - Comparação das quantidades de cafeína detectadas pela técnica de HPLC em diferentes trabalhos. ....	34
<b>Tabela 6</b> - Concentração de cafeína pela massa de erva (mg/g).....	35
<b>Tabela 7</b> - Comparação das quantidades de cafeína detectadas pela técnica de HPLC em diferentes trabalhos. ....	35

## LISTA DE ABREVIACOES

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CA	“Ch” Misto
CM	“Chá” Mate
CV	Ch Verde
CP	Ch Preto
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	13
2.1	Infusões (“Chás”) .....	13
2.2	Cafeína.....	15
2.3	Legislação sobre cafeína.....	188
2.4	HPLC: método para determinação da cafeína .....	199
2.5	Estudos sobre a determinação da cafeína utilizando o método de HPLC .....	211
<b>3.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	233
3.1	Descrição dos materiais, reagentes e equipamentos .....	23
3.2	Descrição dos métodos .....	23
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	26
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	377
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	399

# 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, vários trabalhos têm sido desenvolvidos a fim de investigar a presença da cafeína em bebidas, tais como De Maria e Moreira (2007), Welter (2011), CIIC (2015), Silva, *et. al.* (2018), entre outros. De fato, tanto chás e outras infusões, como refrigerantes e bebidas energéticas podem conter traços de cafeína, cuja quantidade máxima recomenda para consumo humano diário é citada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

A cafeína acarreta diversos efeitos no organismo humano. De acordo com a ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café (2024), esta substância aumenta a taxa metabólica e a quantidade de gordura queimada, evita a fadiga e produz energia, estimula o sistema nervoso simpático, amplia a disponibilidade de dopamina, melhorando o reflexo, além aumentar a concentração e o estado de alerta.

Segundo Batista (2024), a cafeína causa dificuldade para dormir, ansiedade e nervosismo, aumento dos batimentos cardíacos e taquicardia, tremores, irritação estomacal e náusea, dores de cabeça, problemas cardiovasculares e neurológicos e sintomas de abstinência.

Diante de tantas implicações positivas e negativas, e do fato de que não há especificações sobre a cafeína nos rótulos de bebidas como as infusões (“chás”), a verificação e quantificação desta substância neste tipo de produto é de grande importância para o consumidor.

Com base no tema exposto, o presente trabalho teve como objetivo geral detectar e quantificar a cafeína em diferentes amostras de infusões.

A fim de apoiar a elaboração do objetivo geral, os objetivos específicos deste trabalho foram:

- A) Investigar a presença da cafeína em diferentes tipos de infusões utilizando a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- B) Avaliar os resultados obtidos tendo como referência as quantidades citadas em literatura e em documentos da ANVISA.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Infusões (“Chás”)

Do ponto de vista técnico e botânico, "infusão" é o termo mais preciso quando nos referimos a qualquer preparação de plantas que não pertença à espécie *Camellia sinensis*. A palavra "chá" se origina de "cha", palavra chinesa para a planta *Camellia sinensis*, e se refere especificamente às preparações feitas com suas folhas. Porém, qualquer bebida preparada a partir de outras plantas, como camomila, menta ou erva-cidreira, é, tecnicamente, uma infusão (Roseiro; Simões, 2017).

O conceito de infusão retrata um método de extração em água quente de componentes voláteis ou solúveis de outras plantas, como ervas, flores ou frutas. O termo "infusão" refere-se ao processo e não se limita a uma planta específica (Barros *et al.*, 2018).

Para a ANVISA, o chá é definido como sendo o produto constituído de uma ou mais partes de espécie, (ou espécies) vegetal inteira, fragmentada ou moída, com ou sem fermentação, tostada ou não, constantes de Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O produto pode ser acrescido de aroma e/ou especiaria para conferir aroma e/ou sabor (Brasil, 2005).

Etimologicamente, o termo “chá” refere-se exclusivamente à espécie *Camellia sinensis* (Dō, 2024). Ao desembarcarem na China na época das Grandes Navegações, os portugueses procuraram especiarias e encontraram a planta *Camellia sinensis* pela primeira vez. A bebida feita a partir da infusão das folhas de chá os atraiu tanto que estabeleceram um comércio através do Porto de Macau entre a China e Portugal. No ano de 1500, com a chegada de Portugal ao Brasil, começou-se a pensar em cultivá-lo. A família real portuguesa viu o potencial agrônômico do solo brasileiro para cultivar aquela planta e, junto com João IV, estabeleceu uma corte para estudar esse cultivo. (Dō, 2024). No presente trabalho, todas as amostras de ervas infundadas serão denominadas “infusão”, inclusive os verdadeiros chás, isto é, as ervas da espécie *Camellia sinensis*.

Por volta de 1810, as primeiras mudas de *Camellia sinensis*, sementes e mão de obra chinesa chegaram ao porto da Bahia. O Jardim Botânico do Rio de Janeiro foi o destino final. O projeto foi liderado por Frei Leandro do Sacramento, um religioso e botânico, que liderou os

estudos e testes de adaptação da planta no Rio de Janeiro. Em 1822, havia 6 mil pés de chá no Brasil, permitindo 3 colheitas por ano (Dō, 2024).

O cultivo de chá, denominado teicultura, caiu após a abolição dos escravos em 1888, o que foi fortemente afetado pela escassez de trabalhadores. Para suprir a carência de trabalhadores nas lavouras de café, os japoneses imigraram para o Brasil em 1908. Um desses imigrantes foi Torazo Okamoto, que reinventou o cultivo de chá na região do Vale do Ribeira, em São Paulo. Na época, acreditava-se que a variação chinesa (chamada de *sinensis*) produzia apenas chá verde e a variação indiana (chamada de *assamica*) produzia apenas chá preto. Ainda que este tipo fosse popular no Brasil, apenas a variedade originária da China era cultivada no país. Torazo desembarcou no Ceilão, durante uma visita ao Japão e ali pegou algumas sementes de chá das plantações da variedade indiana, iniciando no país a primeira plantação de *Camellia sinensis var. assamica*, a qual possuía melhor rendimento comparado à chinesa (Dō, 2024).

A quantidade de plantações na área aumentou significativamente. O chá de saquinho surgiu como resultado de um grande avanço na produção, o que permitiu um aumento no consumo devido à sua praticidade. Esta nova forma de infusão fomentou a bebida no Brasil, alavancando a indústria, inclusive as exportações, que viveu uma época de sucesso de 1950 até a década de 1990 (Dō, 2024).

A partir dos anos de 1990 a indústria começou a perceber um acúmulo de problemas, dentre eles econômicos, políticos e sociais, causando o declínio da produção no Brasil. Das 45 fábricas existentes no Vale do Ribeira, a única restante foi a Amaya Chás (Dō, 2024).

No ano de 2014, as plantações voltaram a ser potentes, e desde então a popularidade do chá tem crescido substancialmente. O consumo de chá no país ampliou-se 25% entre 2013 e 2018 (Dō, 2024).

A presença do chá marcou muitos eventos históricos significativos, como a Revolução Industrial. A análise da evolução do consumo de chá ao longo do tempo nos permite ver como as características culturais, sociais e econômicas de muitos países se modificaram. As propriedades antioxidantes dos chás da *Camellia sinensis* estão frequentemente ligadas ao seu consumo. Cada vez mais pesquisas científicas são realizadas objetivando conquistar uma melhor compreensão dos mecanismos pelos quais as substâncias antioxidantes funcionam, os benefícios associados às suas capacidades antioxidantes - que protegem o organismo dos radicais livres - e como maximizar essas propriedades. Muitas pessoas dizem que tomam chá

em vez de café, por crer que o primeiro não contém ou contém quantidades insignificantes de cafeína. Contudo, a grande maioria dessas pessoas não têm ciência de que a cafeína pode estar presente em diversas infusões muito consumidas, tais como, no chá verde, no “chá” mate e no “chá” de camomila (Braibante; Silva; Braibante; Pazinato, 2014).

Observa-se em alguns chás, a presença da cafeína e, segundo Brasil (2022), os produtos descafeinados precisam observar os limites máximos de 0,1% de cafeína, no caso de chás e erva-mate; ou 0,3% de cafeína, no caso de produtos solúveis, por exemplo como café, chocolate, cappuccino e outros que são fabricados para consumo apenas com a adição de água. A quantificação de cafeína presente em chás se faz necessária visto que também está presente em diversos tipos de bebidas, sendo popularmente conhecidas como estimulantes, e que seu consumo excessivo pode ocasionar danos à saúde humana (Silva *et. al.*, 2018).

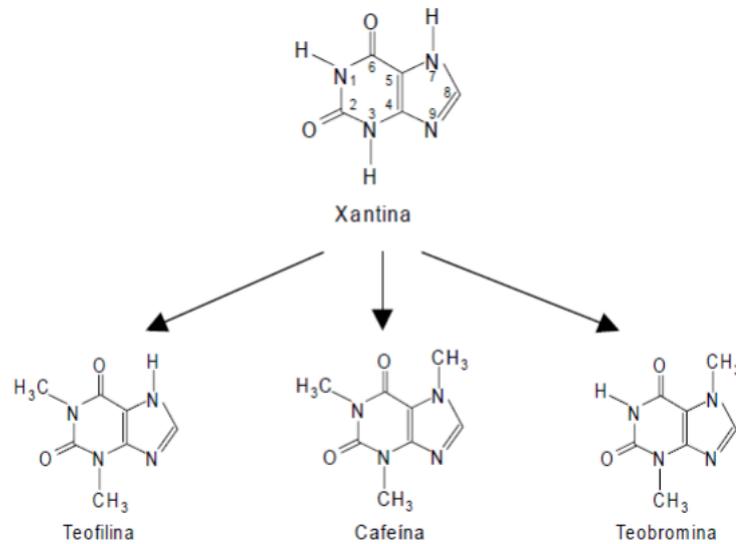
Entretanto, no Brasil observa-se o consumo de outras espécies em infusões, tais como a camomila (*Matricaria recutita* L.), capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* Stapf), hortelã (*Mentha piperita* L.), erva-doce-nacional (*Foeniculum vulgare* Mill.) e “chá” mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) (Dr. Oetker, 2023).

## 2.2 Cafeína

A fórmula molecular da cafeína é  $C_8H_{10}N_4O_2$ .e seu nome oficial é 1,3,7-trimetilxantina. Trata-se de uma substância psicoativa popular conhecida por sua capacidade de estimular o sistema nervoso central. A substância tem vários benefícios para o corpo, no entanto, uma ingestão excessiva pode ser fatal. A cafeína é encontrada em mais de 60 espécies vegetais, embora normalmente seja associada apenas ao café (Santos, 2024).

A seguir, a Figura 1 ilustra a molécula de xantina (classe de compostos químicos) em sua fórmula estrutural, seguida de seus derivados, como a cafeína.

**Figura 1** – Fórmulas estruturais da xantina e seus derivados.



Fonte: Altimari, Cyrino, Zucas, 2001

Dentre os efeitos da cafeína no organismo, pode-se citar: a elevação da taxa metabólica, o que torna menos complexa a queima de gordura; a menor propensão à fadiga; e a produção de energia, o que pode ajudar na perda de peso. Com o consumo da cafeína, a disponibilidade de dopamina é aumentada, melhorando a atenção, estimulando o sistema nervoso simpático. Isso acarreta melhorias no desempenho psicomotor e cognitivo. Trata-se de uma substância que beneficia atividades as quais exigem foco porque estimula o sistema nervoso central e melhora a concentração. Além disso, amplia a disponibilidade de dopamina no córtex pré-frontal, o que contribui para a concentração e o estado de alerta. Tais benefícios estão diretamente relacionados à variabilidade na metabolização individual, isto é, à sensibilidade de cada organismo e às doses consumidas (ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café, 2024).

Entretanto, não são somente benéficos os efeitos da cafeína no organismo humano. Segundo Batista (2024), em geral, a ingestão segura para adultos é de até 400 miligramas de cafeína por dia, sendo que para crianças, adolescentes e gestantes, essa dose deve ser ainda menor. Nessas situações, é improvável que ocorram efeitos colaterais da cafeína. Pelo contrário, várias evidências sugerem que o consumo de algumas fontes de cafeína pode promover a saúde e até prevenir doenças. Todavia, determinar a quantidade diária de cafeína pode ser desafiador. Muitos alimentos e bebidas contêm cafeína. Quando se trata de produtos industrializados, é recomendável verificar as informações no rótulo (Batista, 2024), entretanto bebidas como

alguns tipos de infusões (“chás”), não contém especificada a quantidade de cafeína presente no produto.

Após o consumo de cafeína, conforme o tempo avança, os receptores de adenosina (indutora do sono), são bloqueados de forma constante e desencadeiam uma resposta adaptativa: eles se multiplicam. Isto significa que se pode desenvolver tolerância à cafeína, assim como ocorre com outras substâncias químicas quando consumidas de forma recorrente. Assim, o corpo se acostuma com a presença constante da substância, e o efeito desejado depende da ingestão de quantidades cada vez maiores. Depois de atingir certo limite, o excesso de cafeína pode estar associado a diversos sintomas, que normalmente incluem: dificuldade para dormir, ansiedade, nervosismo, aumento dos batimentos cardíacos, taquicardia, tremores, irritação estomacal, náusea, dores de cabeça, problemas cardiovasculares e neurológicos, além de sintomas de abstinência (tais como irritabilidade, cansaço e dores de cabeça) (Batista, 2024).

Por conta desse bloqueio dos receptores de adenosina, há um aumento na produção de hormônios como a adrenalina e o cortisol, que elevam a sensação de alerta. Portanto, o consumo da cafeína pode levar à sensação de maior concentração. Contudo, essa mesma ação pode, de fato, causar problemas, como a intensificação da ansiedade. Em suma, o excesso de cafeína pode estimular demais o organismo, resultando em um desequilíbrio emocional. Os principais sintomas de ansiedade relacionados ao consumo excessivo de cafeína incluem: batimentos cardíacos acelerados, irritabilidade, sensação de agitação constante e dificuldade para relaxar e dormir. Isto ocorre porque a cafeína causa ansiedade ao aumentar os níveis de hormônios do estresse, o que agrava as reações do corpo em situações de tensão (Diniz, 2024).

Pessoas que sofrem de transtornos de ansiedade, como transtorno do pânico, transtorno de ansiedade generalizada ou transtorno obsessivo-compulsivo, podem ser especialmente sensíveis à cafeína. Neste cenário, o consumo dessa substância pode intensificar os sintomas, causando efeitos como taquicardia, tremores, sudorese excessiva e até crises de pânico. Por isso, quem sofre de algum transtorno de ansiedade, deve considerar limitar ou eliminar o consumo de cafeína, para que se evite o agravamento dos sintomas (Diniz, 2024).

Lima e Fernandes realizaram um estudo sobre o consumo de cafeína por crianças e adolescentes e seus efeitos em relação aos sintomas de ansiedade. Nele, citam que esta é a substância estimulante do sistema nervoso central mais consumida por crianças e adolescentes, por meio de bebidas e alimentos cafeinados. Não obstante a cafeína carregar consigo alguns benefícios como aumento do estado de alerta e concentração, seu uso excessivo da pode elevar

o estresse, causar perda de sono e ansiedade. Tais efeitos provavelmente são alcançados mais facilmente em crianças e adolescentes. Assim, sugere-se limitar o consumo de cafeína em até 100mg/dia por crianças e adolescentes (Lima e Fernandes, 2022).

Uma avaliação coordenada pela Revista da Autoridade Europeia para Segurança dos Alimentos sobre a segurança da cafeína chegou à conclusão de que doses únicas de 200 mg da substância (cerca 3 mg/kg para um adulto de 70 kg), a partir de todas as fontes alimentares, são seguras para a população adulta saudável em geral, se consumida em repouso ou a menos de duas horas precedentes de exercício físico intenso, sob condições ambientais normais. No que diz respeito ao consumo habitual, foi deduzido que a ingestão diária de até 400 mg (aproximadamente 5,7 mg/kg) consumidos ao longo do dia, advindos de todas as fontes alimentares, não causaria preocupação com a segurança para adultos saudáveis, exceto mulheres grávidas (EFSA, 2015 *apud* Brasil, 2018).

### **2.3 Legislação sobre cafeína**

A Resolução RDC nº 716, de 1º julho de 2022 da ANVISA, define requisitos específicos para a rotulagem de produtos que contenham cafeína, tal como listar nas embalagens a quantidade de cafeína por porção e incluir advertências para grupos de risco (crianças, gestantes, lactantes e pessoas com condições de saúde específicas). É proibido o uso de termos como “estimulante” ou “potencializador” na rotulagem, porém a expressão “bebida energética” é permitida. Essas normas visam a clareza e a segurança no consumo de produtos com cafeína, evitando informações que possam induzir o consumo excessivo ou imprudente dessa substância (Brasil, 2022a).

A RDC 718 de 27 de abril de 2010 dispõe sobre alimentos para atletas, incluindo suplementos de cafeína. Tal produto deve fornecer entre 210 e 420 mg de cafeína na porção. Em seus rótulos deve constar a advertência em destaque e negrito: “Este produto não deve ser consumido por crianças, gestantes, idosos e portadores de enfermidades” bem como a quantidade de cafeína na porção.

Já a Resolução RDC nº 719, de 1º de julho de 2022 (ANVISA), dispõe sobre os requisitos sanitários das misturas para o preparo de alimentos e dos alimentos prontos para o consumo. Ela estabelece o limite máximo de cafeína em produtos para compostos líquidos prontos para o consumo e correlatos igual a 350 mg/L (Brasil, 20022b).

## 2.4 HPLC: método para determinação da cafeína

HPLC é a sigla para *High-Performance Liquid Chromatography*, isto é, em português, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A cromatografia é uma técnica analítica utilizada para separar e determinar componentes em uma variedade de materiais orgânicos, inorgânicos e biológicos. Todos os métodos de cromatografia apresentam em comum o uso de uma fase estacionária (fase que está imobilizada sobre uma superfície ou coluna) e uma fase móvel (fase que se move através da fase estacionária, carregando com ela um analito). Os componentes de uma mistura são transportados através da fase estacionária pelo fluxo da fase móvel e as separações ocorrem baseadas nas diferenças de velocidade de migração entre os componentes da fase móvel. Em virtude de o movimento do soluto ser possível somente na fase móvel, a velocidade média com a qual o soluto migra, depende da fração de tempo que permanece nessa fase. O tempo de retenção é o tempo decorrido entre a injeção da amostra e o surgimento do pico do soluto no detector de uma coluna cromatográfica. Na cromatografia líquida, a fase móvel é um solvente líquido, contendo a amostra na forma de uma mistura de solutos. O HPLC é geralmente classificado de acordo com o mecanismo de separação ou pelo tipo de fase estacionária, podendo ser: cromatografia líquido-líquido ou partição, cromatografia líquido-sólido ou adsorção, cromatografia de íons ou troca iônica, cromatografia por exclusão, cromatografia por afinidade e cromatografia quiral (Skoog *et. al.*, 2017, pp.855, 856, 858 e 905).

Segundo Collins *et. al.*, (2006), a cromatografia por adsorção fundamenta-se na competição entre moléculas da amostra e as da fase móvel, para ocupar os sítios ativos na superfície do sólido (fase estacionária). Para que a molécula do soluto possa ser adsorvida na fase estacionária, inicialmente uma molécula da fase móvel deve ser deslocada da superfície. Caso o adsorvente possua uma superfície polar, grupos apolares terão pouca afinidade com a mesma e não irão deslocar a molécula da fase móvel, não sendo, portanto, retidos. Moléculas polarizáveis apresentarão interação dipolo induzido – dipolo com a superfície do adsorvente e, desta forma, também serão retidas; o grau de retenção varia em função da polarização de cada molécula. Assim, é possível estabelecer que compostos mais polares são eluídos depois dos compostos menos polares (Collins *et. al.*, 2006, pp.280 e 281). Neste tipo de técnica, sílica e alumina finamente divididas são as únicas fases estacionárias empregadas. Prefere-se a sílica para a maioria das aplicações devido à sua capacidade de amostragem mais alta (Skoog *et. al.*, p.917).

Existe ainda a classificação dos empacotamentos cromatográficos: cromatografia de fase normal e cromatografia de fase reversa. De acordo com Skoog *et. al.*, 2017 (p.915), os primeiros trabalhos em cromatografia líquida foram baseados em fases estacionárias altamente polares e um solvente relativamente apolar como fase móvel, sendo então denominada cromatografia de fase normal. Já na cromatografia de fase reversa, a fase estacionária é apolar e a fase móvel corresponde a um solvente relativamente polar. Neste caso, o componente mais polar elui primeiro e o aumento da polaridade da fase móvel aumenta o tempo de eluição (Skoog *et. al.*, 2017, p.915).

A utilização do HPLC-UV para determinação de cafeína representou um salto qualitativo importante com relação aos parâmetros de precisão, exatidão e rapidez na análise. Apesar do elevado custo do equipamento, a técnica é comumente empregada para análise de cafeína em alimentos e fluidos biológicos. Tal procedimento é fundamental para se retirar interferentes nas matrizes, particularmente nos fluídos biológicos, que co-eluem com a cafeína e, ainda, absorvem na mesma faixa de comprimento de onda (De Maria e Moreira, 2007).

A Figura 2 ilustra um equipamento de HPLC.

**Figura 2** – HPLC Shimadzu Corporation, modelo: LC-2040C, com detecção UV a 273 nm.



Fonte: Autoria própria.

## 2.5 Estudos sobre a determinação da cafeína utilizando o método de HPLC

Um método baseado em HPLC de fase reversa (C18) foi utilizado para identificação e quantificação de cafeína. Neste estudo, o autor usou metanol: água (40:60, v/v), como fase móvel, com fluxo de 0,7 mL/min e detecção de absorvância a 273 nm. Os níveis de cafeína encontrados em bebidas brasileiras de cola (2 - 41 mg/lata), chá (2 - 40 mg/150 mL) e café (0,2 - 109 mg/150 mL) foram menores do que os relatados na literatura para os produtos correspondentes disponíveis nos Estados Unidos ou na Europa. Tal método é adequado para quantificações de cafeína em bebidas com as vantagens do fato de que nenhum pré-tratamento ou derivação das amostras foi necessário, da rapidez (boa separação em 8 minutos) e do baixo limite de detecção de 1 ng/mL (Andrade *et. al.*, 1995).

Outra pesquisa relacionada foi a de Welter (2011), sobre extração e quantificação de cafeína em energéticos através de HPLC e espectrofotometria. Para a análise em HPLC, Welter avaliou soluções padrão de cafeína por um tempo de 15 minutos a 272 nm, e obteve uma curva padrão e a equação da reta, que mostraram a relação entre a concentração de cafeína e a área do pico no cromatograma. As bebidas energéticas foram homogeneizadas, diluídas a 10% e analisados no HPLC em triplicata (Welter, 2011).

Um estudo de determinação de cafeína em infusões (chás branco, preto, verde e “chá” mate) apresentado no Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica - CIIC (2015), utilizou a técnica de HPLC com detecção por UV a 272 nm quanto ao teor de cafeína, fazendo uso de um detector de arranjo de diodos. Para realizar a separação dos compostos usou-se uma coluna C18 e fase móvel composta por metanol:água (30:70) a uma vazão de 1 mL/min. A quantificação foi efetuada através do método de padronização externa usando curva analítica obtida a partir de padrão da substância de interesse (Congresso Interinstitucional De Iniciação Científica - CIIC, 2015). Os chás de *Camellia sinensis* mostraram maiores teores de cafeína do que o “chá” mate, podendo haver variações entre os tipos de chá, marcas e lotes, sendo que uma significativa parcela da cafeína presente nas folhas da erva é transferida para a infusão durante o seu preparo. Os valores para cada amostra de “chá” mate foram de 4,0 mg, 5,1 mg e 6,8 mg para cada 100 mL de infusão; quanto ao chá preto foram de 12,3 mg, 14,9 mg e 9,6 mg para cada 100 mL de infusão; para o chá verde os valores foram de 11,8 mg, 9,5 mg e 10,9 mg para cada 100 mL de infusão (Congresso Interinstitucional De Iniciação Científica - CIIC, 2015).

O consumo médio diário de 263 mL de chá, baseado em uma pesquisa de hábitos alimentares (Camargo, 2000 *apud* Congresso Interinstitucional De Iniciação Científica - CIIC,

2015) favorece uma ingestão de até 47,6 mg/dia de cafeína na dieta (Congresso Interinstitucional De Iniciação Científica - CIIC, 2015).

Lima (2019) realizou um trabalho visando determinar o teor de cafeína e verificar se o teor de café descafeinado está dentro dos padrões determinados pelas agências reguladoras. Este artigo utilizou-se de HPLC-UV com comprimento de onda de 285 nm, um método analítico rápido (7,0 min) para quantificação de cafeína em café descafeinado. A preparação da amostra envolveu a técnica cromatográfica de extração líquido-líquido com clorofórmio. A separação cromatográfica foi efetuada em coluna de fase reversa ACE C18 (150 x 4,6 mm) e fase móvel contendo acetonitrila:água (20:80 v/v), em condições isocráticas. O ensaio foi linear na faixa de concentração de 10 – 100 µg/mL. Os resultados, obtidos pela validação, mostraram-se satisfatórios, além de afirmar tratar-se de uma técnica adequada para ser aplicada nas amostras avaliadas, ser uma metodologia simples, de rápida execução, sensível e de custos razoáveis (Lima *et. al.* 2019).

Outra pesquisa correlacionada foi a apresentada na 14ª Jornada Científica do IF Sul de Minas -JOSIF - (2022), que teve o objetivo de identificar e quantificar a cafeína nos “chás” mate e chá verde através de métodos analíticos. Para este estudo, a análise Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à espectrometria de Massas Sequencial foi realizada a partir da construção de um método de análise, usando uma reta de calibração  $R^2=0,9914$ , com concentrações do padrão de 0,025; 0,050; 0,075; 0,100 e 0,125 mg/L, e comprimento de onda a 272 nm. O resultado para análise da cafeína do “chá” mate e no chá verde foram respectivamente de, 0,114mg/mL 0,054mg/mL, o que evidenciou a baixa quantidade do composto em tais bebidas, além de concluir sobre a importância da investigação no setor alimentício, sendo possível determinar se um composto é adequado ou não para o consumo humano (JOSIF, 2022).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Descrição dos materiais, reagentes e equipamentos

**Tabela 1** – Materiais, reagentes e equipamento utilizados no trabalho.

<b>Materiais e Reagentes</b>	
4 béqueres de 250 mL	Balança analítica
4 placas de petri ou vidro de relógio	Kitassato
Bico de Bunsen	Filtro a vácuo
Suporte com tela de amianto	HPLC Shimadzu Corporation, modelo: LC-2040C, com detecção UV a 273 nm
4 balões volumétricos de 200 mL	Coluna C18 de sílica (Shim-pack VP-ODS)
12 balões volumétricos de 25 mL	Amostras de ervas infusões: chá preto, chá verde, “chá” mate e “chá” misto (camomila, capim-cidreira, hortelã e erva-doce-nacional)
7 balões volumétricos de 10 mL	Água deionizada
18 vials de 1,5 mL	Metanol
5 seringas descartáveis	1 Schott 1L
5 filtros PVDF de 0,45 µm	1 Schott 300 mL
Papel manteiga	Ultrassom
Pipeta Automática	Ponteira de pipeta automática

Fonte: Autoria própria.

#### 3.2 Descrição dos métodos

Primeiramente, foram definidas as amostras para análise. Optou-se por realizar as análises com diferentes chás de uma mesma marca: chá verde (CV), chá preto (CP), “chá” mate (CM) e “chá” misto (CA), pela suposição da presença de cafeína nos três primeiros tipos, e ausência no sugerido para dormir.

Todas as determinações de massa deste trabalho, foram realizadas em balança analítica, sobre papel manteiga. Inicialmente foram determinadas as massas das ervas a serem utilizadas nas infusões. A determinação das massas foi feita em triplicata pesando a massa contida no sachê de cada tipo de infusão.

Para a preparação das infusões, em um béquer, com o auxílio do bico de Bunsen, ferveu-se 200 mL de água deionizada até atingir a temperatura de 90 °C, aproximadamente. O béquer foi retirado do fogo e acrescentou-se o sachê de chá verde (CV). O sistema foi tampado com uma placa de petri e permaneceu em repouso por 5 minutos. Em seguida, a solução da amostra

obtida, foi transferida para um balão volumétrico de 200 mL e acertou-se o menisco com água deionizada. Efetuou-se o mesmo processo para as demais amostras (CP, CM e CA). No total foram preparadas 4 amostras as quais foram armazenadas sob refrigeração. Para as análises, as amostras foram diluídas 10 vezes, transferindo-se 25,0 mL de cada uma delas para balão volumétrico de 250 mL. As amostras diluídas foram transferidas para um vial de 1,5 mL, com o auxílio de uma seringa com filtro PVDF de 0,45  $\mu\text{m}$ .

**Figura 3** – Infusões preparadas e aferidas.



Fonte: Autoria própria.

A solução estoque do padrão de cafeína utilizado para a construção da curva analítica, foi preparada dissolvendo-se 0,0134g de padrão de cafeína em 10,0 mL de água deionizada. A solução obtida foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e, completando o volume aferido do balão com água deionizada, obteve-se uma solução padrão de concentração igual 134 mg/L em balão volumétrico.

Para a análise, os padrões foram transferidos para um vial de 1,5 mL, com o auxílio de uma seringa com filtro PVDF de 0,45  $\mu\text{m}$ .

Com relação à preparação da fase móvel, separou-se 1 L de água deionizada e 250 mL de metanol, distribuídos em frascos de vidro Schott. Ambos os solventes foram submetidos a um processo de desgaseificação por 8 minutos, utilizando um aparelho ultrassom para a remoção de bolhas de ar. Após a inserção dos solventes no HPLC, a entrada da coluna foi conectada e o fluxo inicial ajustado para 0,1 mL/min, utilizando uma fase móvel composta de água:metanol (90:10). O fluxo foi aumentado gradativamente até alcançar 1 mL/min. Para finalizar, a fase móvel foi ajustada para a proporção de água:metanol (60:40). A pressão de entrada foi monitorada, e após estabilização, a saída da célula de fluxo do detector foi

conectada. A diferença de pressão entre a entrada e a saída foi verificada, especificada abaixo de  $1,1843 \times 10^{-7}$  atm para a operação segura do sistema. A técnica cromatográfica utilizada, portanto, foi a cromatografia de adsorção e empacotamento de fase reversa, considerando que para o experimento foi utilizada uma coluna C18 de 15 cm (Shim-pack VP-ODS Size: 150 x 4,6 mID).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela a seguir, mostra as medidas de massa de 3 amostras de cada tipo de infusão:

**Tabela 2** - Dados referentes às massas das ervas dentro do sachê, fora do sachê e massa do sachê.

	<b>Inteiro (g)</b>	<b>Somente a erva (g)</b>	<b>sachê de papel (g)</b>
<b>CVI</b>	2,083	1,8702	0,2231
<b>CVII</b>	2,013	1,8025	0,2117
<b>CVIII</b>	2,0824	1,869	0,2135
<i>média</i>	2,059466667	1,847233333	0,2161
<b>CPI</b>	2,1648	1,9511	0,2126
<b>CPII</b>	2,1544	1,9472	0,212
<b>CPIII</b>	2,186	1,9687	0,2186
<i>média</i>	2,1684	1,955666667	0,2144
<b>CMI</b>	1,7166	1,5014	0,2159
<b>CMII</b>	1,762	1,5473	0,2159
<b>CMIII</b>	1,7248	1,5079	0,2168
<i>média</i>	1,734466667	1,518866667	0,2162
<b>CAI</b>	1,8147	1,6049	0,2096
<b>CAII</b>	1,781	1,5735	0,2086
<b>CAIII</b>	1,9013	1,6904	0,2121
<i>média</i>	1,832333333	1,622933333	0,2101

Fonte: Autoria própria.

A Tabela 3 apresenta os dados obtidos na leitura dos padrões de cafeína. Para a leitura, foi fixado no detector o comprimento de onda de 273 nm.

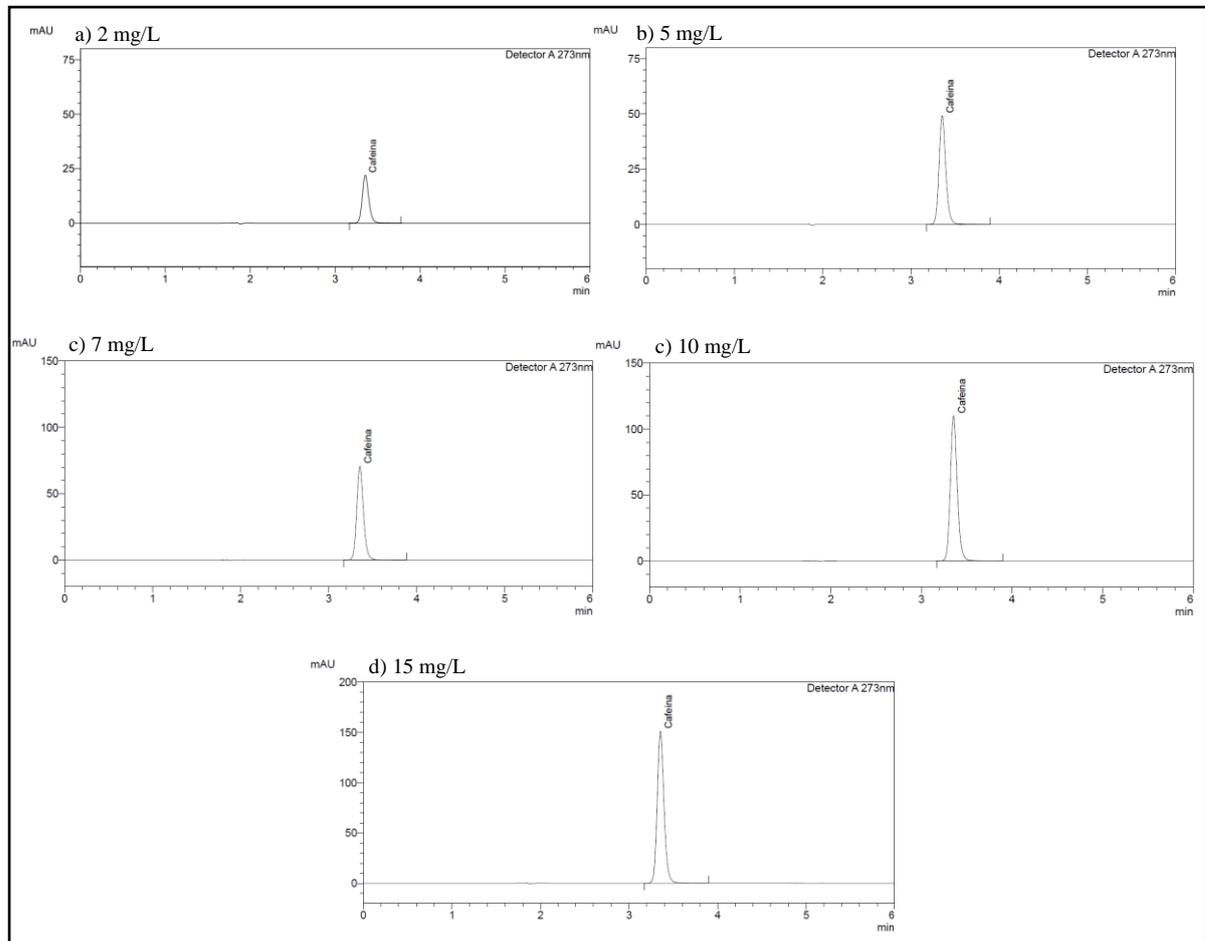
**Tabela 3** - Dados referentes à curva de calibração: tempo de retenção e área do pico.

<b>Solução estoque (mg/L)</b>	<b>Concentração do padrão (mg/L)</b>	<b>Área</b>	<b>Tempo de retenção (min)</b>
134	2,680	118865	3,354
	6,700	264790	3,354
	9,380	379343	3,355
	13,400	590100	3,355
	20,100	808138	3,353

Fonte: Autoria própria.

A Figura 4 apresenta os cromatogramas dos padrões de cafeína.

**Figura 4** – Cromatogramas dos padrões de cafeína de 2 a 15 mg/L utilizados para as análises em 273 nm.



Fonte: Autoria própria.

Através dos cromatogramas acima (Figura 4) pode-se verificar que o tempo de retenção da cafeína é de aproximadamente 3,354 minutos, e que quanto maior a concentração de cafeína, maior será a área do pico, ou seja, maior é a intensidade do sinal.

Considerando-se os relatórios de cada solução padrão gerados por HPLC, obteve-se os valores exatos da área do pico, e com esses dados, pode-se construir uma curva padrão de cafeína (Figura 5) na qual se apresentam a área do pico do cromatograma em função da concentração de cafeína. A partir da linearização dos pontos obtidos das leituras dos padrões, foi gerada a equação da reta:

$$y=40656x+7312,2 \text{ (equação 1)}$$

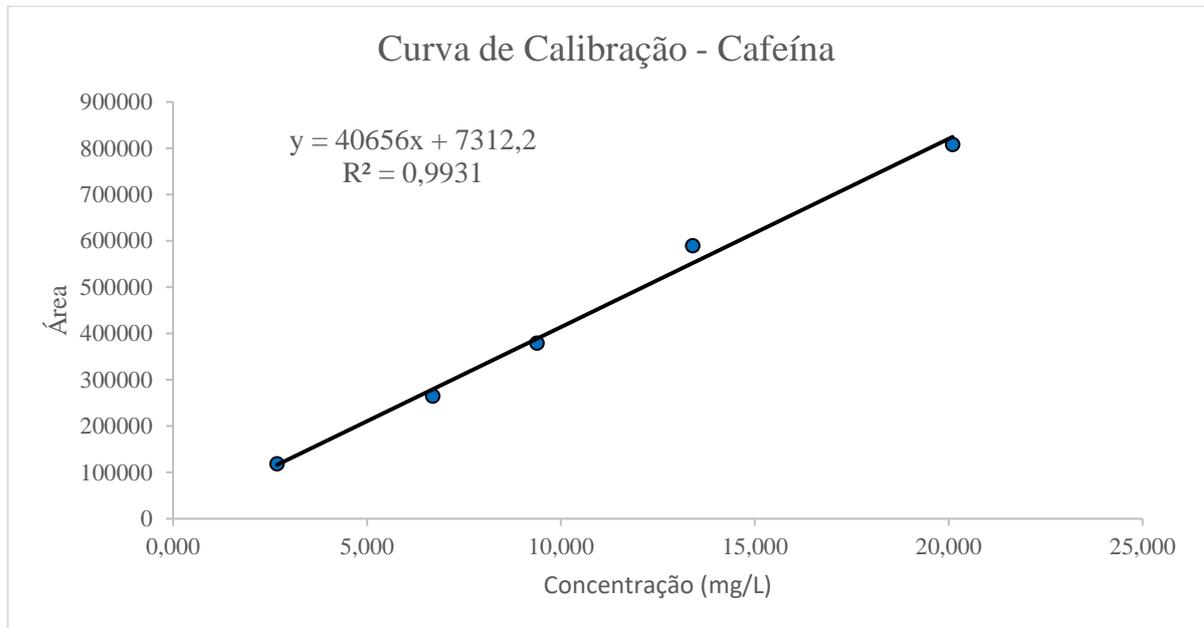
onde:

$$y = \text{área do pico}$$

= x concentração de cafeína em miligramas por litro.

Seu fator de regressão ( $R^2 = 0,9931$ ) indicou que o modelo gerado se ajustou bem às amostras.

**Figura 5** – Curva de calibração de cafeína obtida através de HPLC.



Fonte: Autoria própria.

Em seguida, foram analisadas as amostras de chá (CV, CP, CM e CA) no HPLC, em triplicata, no comprimento de onda de 273 nm.

Os valores de área do pico de cada replicata das infusões utilizadas nos cálculos foram retirados dos relatórios gerados pelo cromatógrafo e descritos na Tabela 4, onde se encontram também os valores de concentração de cafeína em cada amostra, obtidos a partir da equação da reta e os valores de desvio padrão referente às três amostras de cada infusão.

**Tabela 4** - Dados referentes às amostras das infusões analisadas.

<b>Amostras</b>	<b>Tempo de retenção (min)</b>	<b>área (y)</b>	<b>Concentração média (mg/L) diluição 10%</b>	<b>Concentração média total (mg/L)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
CV 1	3,355	277679	66,501	63,329	3,053
CV 2	3,355	252920	60,411		
CV 3	3,353	263747	63,074		
CP 1	3,354	375946	90,671	90,527	0,597
CP 2	3,354	377439	91,039		
CP 3	3,354	372695	89,872		
CM 1	3,356	131868	30,637	30,669	0,039
CM 2	3,353	132176	30,712		
CM 3	3,354	131959	30,659		
CA 1	3,309	4281	-0,746	-0,820	0,086
CA 2	3,303	4065	-0,799		
CA 3	3,291	3595	-0,914		

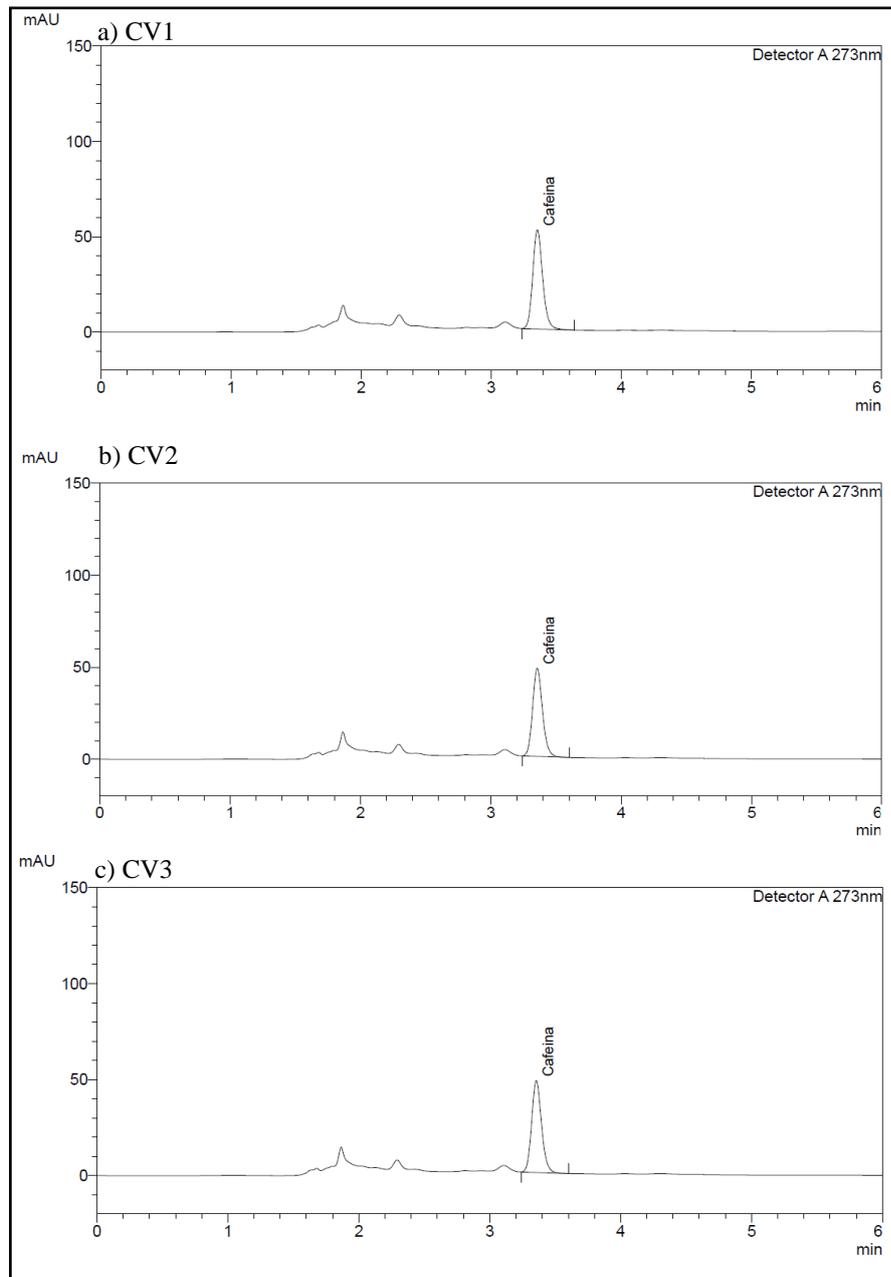
Fonte: Autoria própria.

A infusão CP foi a que apresentou a maior concentração de cafeína. Seu desvio padrão resultou no valor de 0,597, valor relativamente baixo, indicando que os valores de concentração de cafeína de suas amostras estão todos próximos da média, havendo pouca irregularidade entre estes dados. A infusão CM teve o menor desvio padrão 0,039, mostrando que os valores de concentração de cafeína de suas amostras estão todos muito pouco dispersos, isto é, bem regulares. Já a infusão de chá verde (CV) mostrou o oposto: o valor do desvio padrão foi relativamente alto (3,0529), revelando que a concentração de cafeína de cada uma de suas amostras variou bastante entre si.

As concentrações do “chá” Misto mostram resultados negativos por sua área ficar fora da curva de calibração apresentada na Figura 9. Assim sendo, os cálculos com base na equação da reta utilizada no presente trabalho não podem ser aplicados para essas amostras, por existir uma concentração inferior ao limite mínimo da curva de calibração preparada.

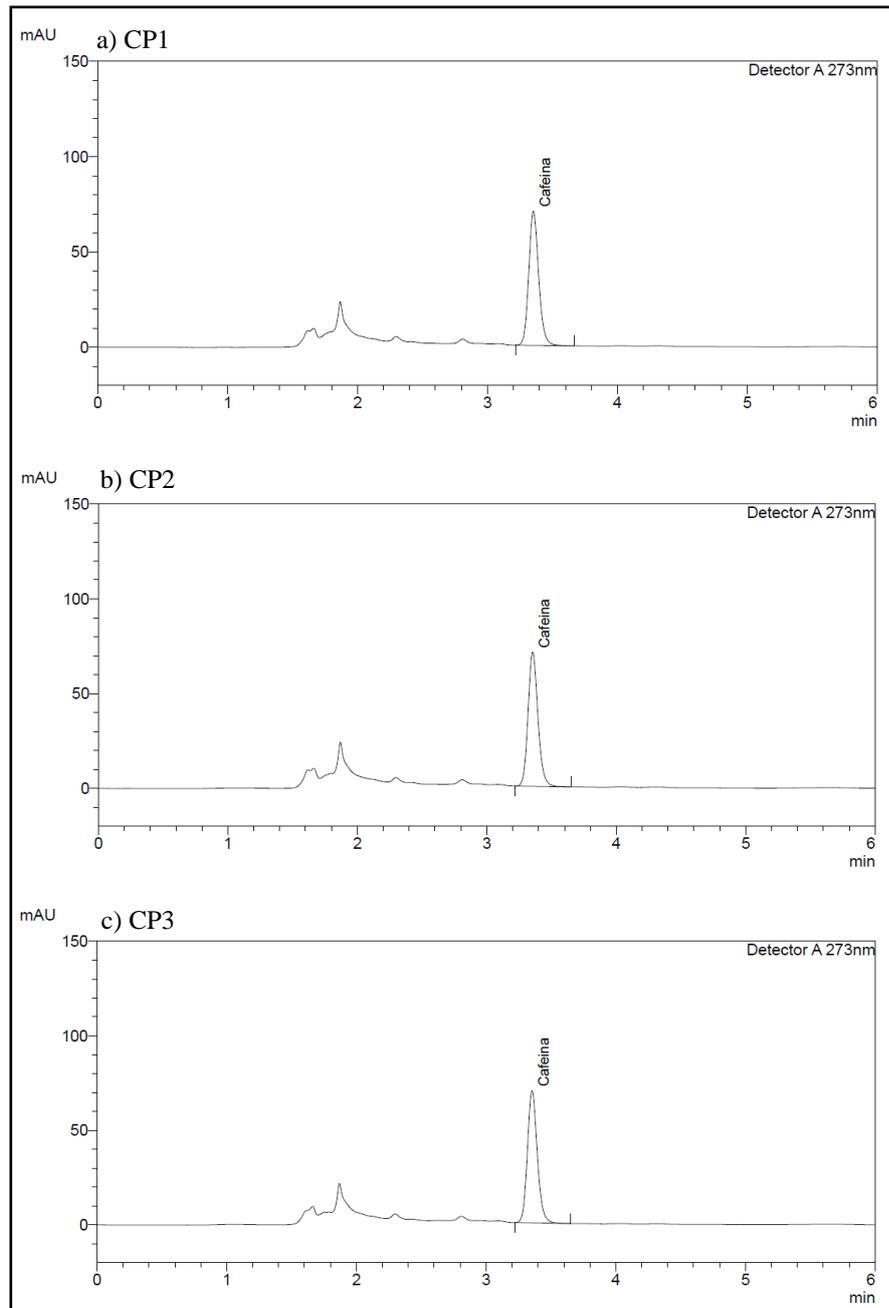
Nas figuras seguintes (Figuras 6, 7, 8 e 9), são apresentados os cromatogramas das respectivas infusões.

**Figura 6** – Análise em triplicata da infusão CV 10% em HPLC.



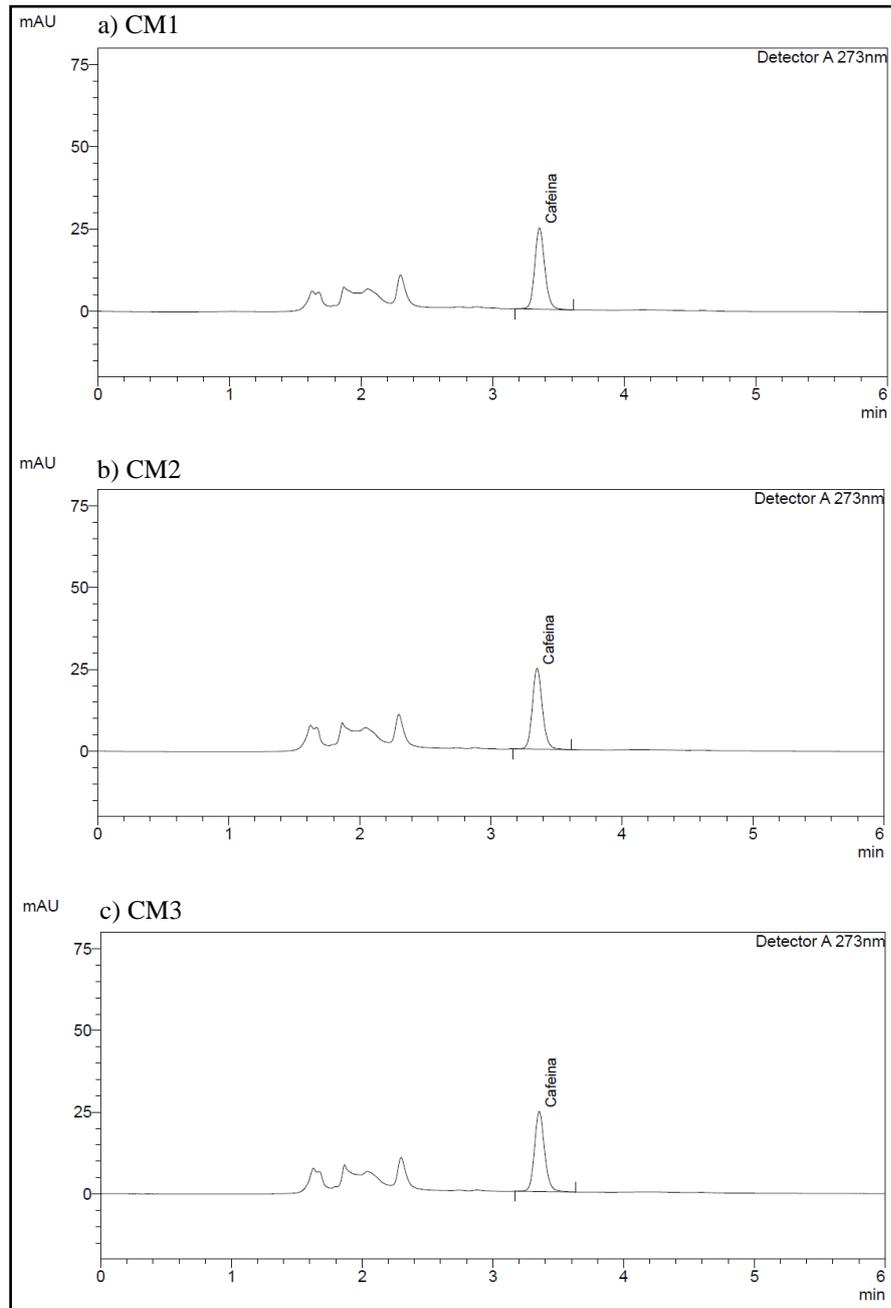
Fonte: Autoria própria.

**Figura 7** – Análise em triplicata da infusão CP 10% em HPLC.



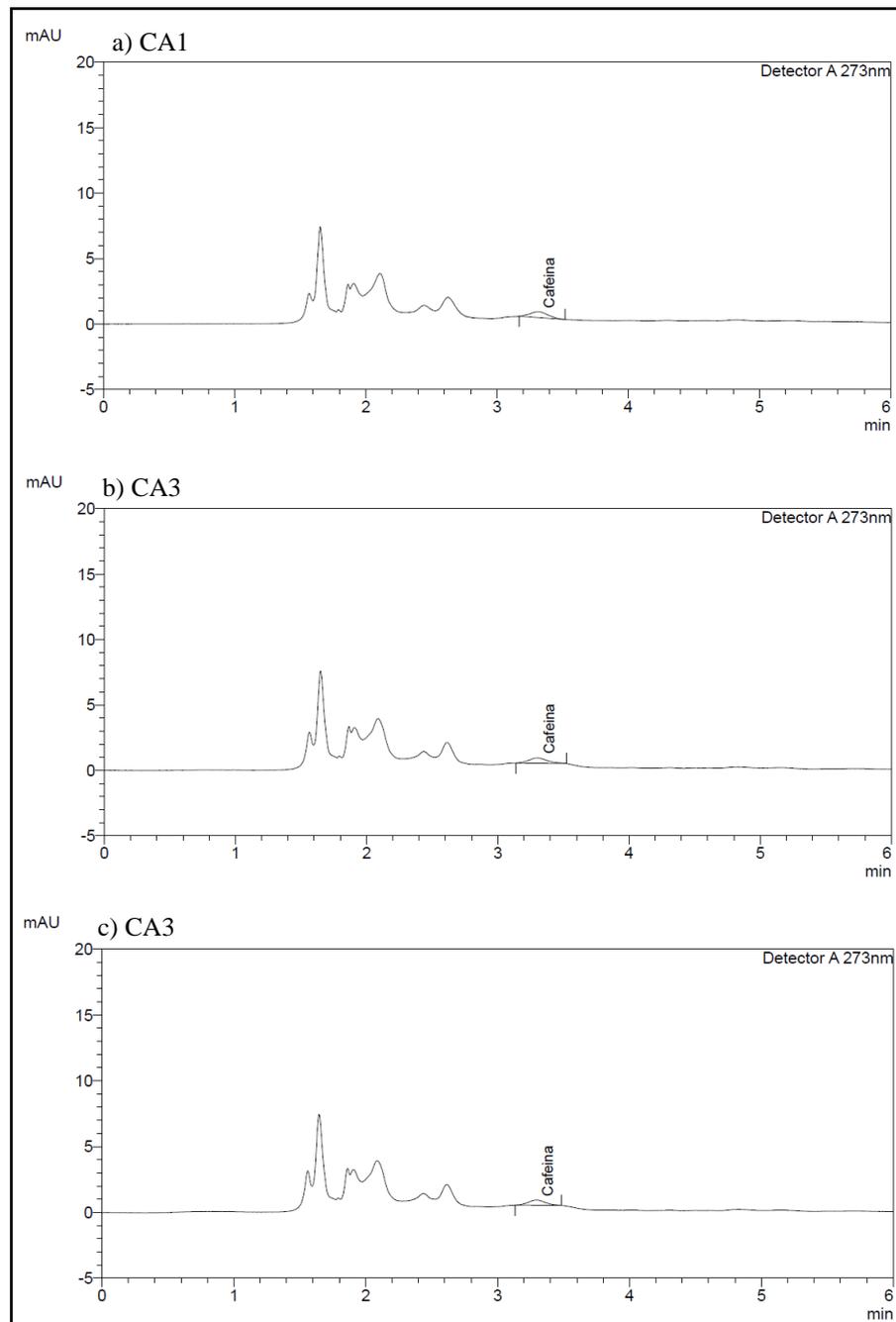
Fonte: Autoria própria.

**Figura 8** – Análise em triplicata da infusão CM 10% em HPLC.



Fonte: Autoria própria.

**Figura 9** – Análise em triplicata da infusão CA 10% em HPLC.



Fonte: Autoria própria.

Analisando-se os cromatogramas (Figuras 6 a 9), observa-se que as amostras de tipo de infusão com maior quantidade de cafeína foram de CP, seguida pela CV e CM. Para as amostras referentes à infusão CA, não foi possível determinar a quantidade de cafeína presente pois, por ser muito pequena, está fora da faixa considerada para a curva padrão. Dessa forma, é possível inferir que nas amostras do “chá” misto a concentração de cafeína está abaixo de 2,0 mg/L.

Para uma melhor comparação com o consumo diário e por dose da cafeína, foi feita a Tabela 5 com a concentração média total das amostras, que representa o valor encontrado em 200 mL de cada infusão.

**Tabela 5** - Concentração média de cada tipo de infusão.

<b>Amostras</b>	<b>Concentração média (mg/L) diluição 10%</b>	<b>Concentração média total (mg/L) 100%</b>	<b>Consumo por dose</b>	<b>Consumo máx. diário</b>
CV	6,333	63,329	200 mg	400 mg
CP	9,053	90,527		
CM	3,067	30,669		

Fonte: Autoria própria.

Como é possível observar, os valores obtidos nas análises não ultrapassam o limite máximo de consumo, tanto por dose quanto diário, quando é preparado no cotidiano utilizando os saquinhos comprados em mercados. Desta maneira, é explicado o motivo da não obrigatoriedade de evidenciar a presença da cafeína nos rótulos.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 4, calculou-se a quantidade (em litros) de cada infusão tolerável segundo a dose máxima diária recomendada pela ANVISA, utilizando-se a seguinte equação:

$$V (L) = 400 (mg) * 1000 (L) / Caf (mg) \text{ (equação 2)}$$

onde:

V= volume máximo em litros da infusão recomendado por dia

Caf = massa média de cafeína em miligramas em determinada infusão realizada a partir da massa média de 1 sachê de erva

As doses aproximadas de CV, CP, CM e CA por dia seriam, respectivamente, de 6,316 L, 4,418 L, 13,042 L. e 200 L.

Considerando a Tabela 2, pode-se realizar o cálculo da concentração de cafeína pelos dados de massas das ervas de cada tipo de infusão, chegando a um valor em mg/g, já que as massas aproximadas da erva (ou mix de ervas) de cada sachê de papel vem descrita na embalagem das infusões, podendo então, o consumidor realizar um comparativo. Para este cálculo, utilizou-se a seguinte equação:

$$C (mg/g) = Caf (mg) / MME (g) \text{ (equação 3)}$$

onde:

C = concentração de miligrama de cafeína por grama de erva;

Caf = massa média de cafeína em miligramas em determinada infusão realizada a partir da massa média de 1 sachê de erva

MME = massa média da erva retirada do sachê em mg

**Tabela 6-** Concentração de cafeína pela massa de erva (mg/g).

Amostra	MME (g) = massa média da erva retirada do sachê, em g	Caf (massa média de cafeína contida em um sachê de erva, em mg)	MME (kg) = massa média da erva retirada do sachê, em kg	C (mg/kg) = Concentração de cafeína em mg, por kg de erva	C (mg/g) = Concentração de cafeína em mg, por g de erva
CV	1,847	63,329	0,00185	34283,162	34,283
CP	1,956	90,527	0,00196	46289,586	46,290
CM	1,519	30,669	0,00152	20192,029	20,192
CA	1,6229	-0,82	0,00162	-505,258	-0,505

Fonte: Autoria própria.

A seguir, a Tabela 7 apresenta as concentrações de cafeína em infusões de alguns dos trabalhos citados na Revisão Bibliográfica, bem como os resultados obtidos no presente estudo para fins de comparação.

**Tabela 7** – Comparação das quantidades de cafeína detectadas pela técnica de HPLC em diferentes trabalhos.

Autor	Tipo de infusão	Massa cafeína (mg)	Volume (mL)	Concentração (mg/L)
Andrade et. al., 1995	"Chá" mate	2	100	20,000
CIIC, 2015	"Chá" mate 1	4	150	26,667
	"Chá" mate 2	5,1	150	34,000
	"Chá" mate 3	6,8	150	45,333
	Chá preto 1	12,3	150	82,000
	Chá preto 2	14,9	150	99,333
	Chá preto 3	9,6	150	64,000
	Chá verde 1	11,8	150	78,667
	Chá verde 2	9,5	150	63,333
	Chá verde 3	10,9	150	72,667
JOSIF, 2022	"Chá" mate	0,114	1	114,000
	Chá verde	0,054	1	54,000
Presente trabalho	Chá verde	12,666	200	63,329
	Chá preto	18,105	200	90,527
	"Chá" mate	6,134	200	30,669

Fonte: Autoria própria.

Como pode-se observar na Tabela 7, entre todos os tipos de infusões de ervas analisadas nos trabalhos citados, o presente estudo obteve valores mais similares de concentração de miligramas de cafeína por litro especificamente com os resultados apresentados por CIIC (2015). Para o caso do chá verde, este trabalho determinou uma concentração de 63,329 mg/L, isto é, muito próximo do valor de 63,333mg/L obtido por CIIC (2015). Quanto ao chá preto, obteve-se a concentração de 90,527 mg/L, um pouco inferior ao valor mais semelhante deste tipo de chá, encontrado por CIIC (2025) que foi de 82,000 mg/L. Já com relação ao “chá” mate, a concentração resultante foi de 30,669 mg/L, ligeiramente abaixo do valor apresentado no estudo de CIIC (2015), que foi de 34,000 mg/L. Outra semelhança desta pesquisa com o estudo de CIIC (2015), foi a de que a infusão com o menor valor de concentração de cafeína em ambos os trabalhos, foi a de “chá” mate. Já a maior concentração de cafeína foi determinada em amostras de chá preto, tanto para este estudo quanto para CIIC (2015).

Ao considerar grandes diferenças entre valores de concentração de cafeína de um mesmo tipo de infusão obtidos no presente estudo comparando aos outros trabalhos citados na Tabela 7, temos que os 30,669 mg/L encontrados no “chá” mate da presente análise contrapõe-se de forma mais discrepante à concentração de 114 mg/L de “chá” mate quantificada por JOSIF (2022).

## 5. CONCLUSÃO

Apesar do presente estudo ter passado por algumas limitações, tais como a quantidade insuficiente de vidrarias existentes no laboratório de físico-química da Fatec para se efetuar todas as diluições de uma só vez, pode-se afirmar que todos os seus objetivos foram alcançados: realizou-se os testes laboratoriais que resultaram na determinação e quantificação do teor de cafeína em amostras de infusão variadas, através da técnica de HPLC; avaliou-se os resultados obtidos tendo como referência as quantidades citadas em literatura e documentos da ANVISA.

A técnica cromatográfica de HPLC mostrou-se um método adequado, eficiente e de rápida execução para quantificação de cafeína em infusões.

Considerando-se que os valores de cafeína obtidos nesta pesquisa, de fato são bastante reduzidas, entende-se que atualmente a descrição desta informação ainda não seja obrigatória nos rótulos das embalagens das infusões analisadas. Entretanto, observa-se cada vez mais pesquisas na área da saúde, confirmando impactos positivos e negativos da cafeína no corpo humano, inclusive correlacionando por exemplo, com uma das maiores questões psíquicas da atualidade: a ansiedade. Por isto seria interessante e útil para a população que a quantidade desta importante substância fosse indicada com relação ao consumo de, por exemplo, uma xícara de 200 mL (quantidade esta indicada no modo de preparo dos rótulos para fazer um sachê de infusão). Juntamente a isto, seria necessário citar no rótulo ao menos a quantidade máxima recomendada para o ser humano, podendo auxiliar justamente o poder de escolha do consumidor, tal como já é exigido pela ANVISA para suplementos de cafeína para atletas: a quantidade desta substância na porção deve ser declarada no rótulo do produto.

De acordo com as concentrações de cafeína quantificadas neste trabalho, pode-se afirmar que os produtos analisados se encontram dentro dos padrões da ANVISA. A infusão contendo valor positivo de concentração desta substância que pode ser consumida em maior quantidade seria a de “chá mate”, seguida pelo chá verde e por último chá preto, cuja concentração de cafeína foi a mais elevada.

Os resultados obtidos nesta pesquisa são comparáveis aos apresentados pelo trabalho de CIIC (2015).

Através deste trabalho foi possível rever fundamentos importantes de Química Analítica e Análise Instrumental, que reforçam o aprendizado teórico e experimental ao longo da graduação em Tecnologia de Processos Químicos. Além de se adquirir conhecimento específico em

análise por HPLC-UV, pôde-se desenvolver todas as fases de um projeto de pesquisa, entendendo melhor o significado de cada uma delas, como estruturar o trabalho, organizar os experimentos, buscar dados em fontes confiáveis e saber referenciá-las corretamente, rever conceitos importantes das disciplinas da graduação e colocá-los em prática na elaboração e interpretação dos resultados. Por fim, este trabalho rendeu de resultados interessantes de uma pesquisa exploratória, e sugere-se para futuros trabalhos, novas análises com o tipo de infusão denominado “chá misto”, preparando-se uma curva de calibração específica para ele, a fim de se quantificar a concentração ínfima de cafeína, que nossos resultados predisseram. Ainda com relação a infusões seria interessante analisá-las separadamente, incluindo novas ervas para investigação de presença de cafeína.

Este Trabalho de Graduação no inspirou como pesquisadores e profissionais na área de Química, e nos motivou a buscar sempre a melhor qualidade de processos, tanto na parte teórica, quanto na prática, pois nos desafiou a superarmos em questões diversas como falta de materiais, a organização do tempo, a coesão da equipe e assim concluímos esta etapa de nossa formação, com bagagem positiva, para nos tornarmos profissionais e seres humanos cada vez melhores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. Conheça os benefícios neurológicos da cafeína. 2024. Disponível em: <https://exame.com/casual/conheca-os-beneficios-neurologicos-da-cafeina/> . Acesso em: 23 abr. 2024.

ALVES Adriana Barreto; BRAGAGNOLO Neura; Determinação simultânea de teobromina, teofilina e cafeína em chás por cromatografia líquida de alta eficiência. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 38, n. 2, p. 237-243, abr./jun., 2002. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/4053/3839> . Acesso em 17 de abril de 2024.

ANDRADE, Jailson B. de.; PINHEIRO, Heloisa Lúcia Castellar; LOPES, Wilson Araújo, MARTINS, Solange; AMORIM, Maria Mendonça; BRANDÃO, Aldy Maria. Determinação de cafeína em bebidas através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Química Nova. 30 de janeiro de 1995. Salvador-BA. Nota Técnica. Disponível em: [http://submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/1995/vol18n4/v18\\_n4\\_10.pdf](http://submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/1995/vol18n4/v18_n4_10.pdf) . Acesso em: 04 de novembro de 2024.

BARROS, M.; SIMÕES, J.; SANTOS, R. Infusões e Seus Benefícios. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 2018.

BATISTA, M.C. Efeitos colaterais da cafeína. Disponível em: <https://vidasaudavel.einstein.br/efeitos-colaterais-da-cafeina/> . Acesso em: 29 de março de 2024.

BRAIBANTE, Mara Elisa Fortes; SILVA, Denise da; BRAIBANTE, Hugo T. Schmitz; PAZINATO, Maurícus Selvero. A Química dos chás. Quím. Nova Esc., São Paulo, p. 30, 02

jan. 2014. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/prelo/QS-47-13.pdf>. Acesso em: 16 abr. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº. 277, de 22 de setembro de 2005. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/res0277\\_22\\_09\\_2005.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/res0277_22_09_2005.html) . Acesso em: 16 abr.2024.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Justificativas para os limites mínimos e máximos de nutrientes, substâncias bioativas e enzimas da proposta regulatória de suplementos alimentares; Gerência-Geral de Alimentos; 2018. Disponível em: [https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898888/Justificativa\\_Limites\\_Suplementos+-+CP+457-2017/ac372a4a-43ba-4721-bf3c-bd3c1ce60f81](https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898888/Justificativa_Limites_Suplementos+-+CP+457-2017/ac372a4a-43ba-4721-bf3c-bd3c1ce60f81). Acesso em: nov.2024.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 716, de 1º julho de 2022. 2022a. Disponível em: [https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC\\_716\\_2022\\_.pdf](https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_716_2022_.pdf) . Acessado em: 19 abr. 2024.

BRASIL. . Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RESOLUÇÃO - RDC Nº 18, de 27 de abril de 2010. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0018\\_27\\_04\\_2010.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0018_27_04_2010.html). Acesso em: 14 dez. 2024

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 719, de 1º julho de 2022. 2022b. <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-719-de-1-de-julho-de-2022-413364893>. Acessado em: nov. 2024.

CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - CIIC, 9., 2015, Campinas. DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE CAFEÍNA EM CHÁS, SUA TRANSFERÊNCIA PARA A INFUSÃO E ESTIMATIVA DE INGESTÃO. Campinas. 2015. 8 p. Disponível em: <http://www2.aptaregional.sp.gov.br/ciic2017/resumo2015/RE15237.pdf> . Acesso em: 13 abr. 2024.

DE MARIA, Carlos A. B.; MOREIRA, Ricardo F. A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. Quím. Nova v. 30 n. 1, São Paulo, jan./fev. 2007. Disponível em: Acessado em: 20 de abril de 2024.

DINIZ, Larissa. **Cafeína e ansiedade qual a ligação?** Cafeína Causa Ansiedade? Entenda a Relação e Como Reduzir Efeitos. Disponível em: <https://dralarissadiniz.com.br/cafeina-e-ansiedade-qual-a-ligacao/>. Acesso em: 14 dez.2024.

DÕ, C.; A história do chá no Brasil São Paulo, 26 abr.2024. Disponível em: <https://chado.com.br/a-historia-do-cha-no-brasil/> .

DR. OETKER. 2023. Disponível em: <https://www.oetker.com.br/produtos/c/chas>. Acesso em: 14 dez. 2024.

JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes *et al.* Cromatografia líquida de alta eficiência: as técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência. In: COLLINS, Carol H. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006. Cap. 9, p. 280; 281.

JOSIF. 14<sup>a</sup>. Jornada Científica e Tecnológica do IF SUL DE MINAS. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CAFEÍNA EM DOIS TIPOS DE CHÁS POR HPLC/MS. v. 14. n.1 (2022) Disponível em: <https://josif.ifsuldeminas.edu.br/ojs/index.php/anais/article/view/420>. Acesso em: 06 nov. 2024.

LIMA, B.A.; FERNANDES, P.L.C. O consumo de cafeína por crianças e adolescentes e seus efeitos em relação aos sintomas de ansiedade. Anais do 24º Simpósio de TCC do Centro Universitário ICESP. 2022(24); 560-565. Disponível em: <https://revistas.icesp.br/index.php/Real/article/view/4261>. Acesso em: 14.dez.2024.

LIMA, M. F. F. de; FRANÇA, G. I. da S.; SOUZA, D. J. F. de; CABRAL, A. G. S.; FILHO, C. A. de A.; LIMA, E. N. de; SOUSA, C. E. M. de. Analytical validation of caffeine quantification method in decaffeinated coffee by HPLC-UV/ Validação analítica do método de quantificação de cafeína em café descafeinado por HPLC-UV. Brazilian Journal of Health Review, [S. l.], v. 2, n. 5, p. 4600–4610, 2019. DOI: 10.34119/bjhr2n5-061. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/4053>. Acesso em: 6 nov. 2024.

MELLO, Danielle; KUNZLER, Djuna K.; FARAH, Michelle. A cafeína e seu efeito ergogênico. Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, São Paulo v. 1, n. 2, p. 30-37, mar/abr. 2007. Disponível em: <https://www.rbne.com.br/index.php/rbne/article/view/15/14> . Acessado em: 11 de abril de 2024 .

ROSEIRO, C.; SIMÕES, M. A. *Camellia sinensis* e o Significado de Chá. Acta Botanica Brasilica, 2017.

SANTOS, Vanessa Sardinha dos. "Cafeína"; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilescola.uol.com.br/drogas/cafeina.htm> . Acesso em 19 de abril de 2024.

SILVA, Daniele Nascimento; PIMENTEL, Marielle Flaviane de Carvalho; MACENA, Daniel Ângelo; GOMES, Vinícius Marques. CONCENTRAÇÃO DE CAFEÍNA EM *Camellia sinensis*. Colloquium Exacterum. Cidade, p. 09-15. 19 dez. 2018. Disponível em: <https://journal.unoeste.br/index.php/ce/article/view/2745> . Acesso em: 19 abr. 2024.

COLLINS, C. H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, P. S. Fundamentos de cromatografia – Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2006.

SKOOG, Douglas A. *et al.* Fundamentos de Química Analítica. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2017. 950 p. Tradução de: Robson Mendes Matos.

WELTER, Sinara Queli. Extração e quantificação de cafeína em energéticos através de cromatografia líquida de alta eficiência e espectrofotometria. 2011. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011.