



ANÁLISE QUÍMICA DO CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*): IDENTIFICAÇÃO DA CAFEÍNA E DOS COMPOSTOS QUÍMICOS VOLÁTEIS

Carvalho, Erik Almeida¹; Niculau, Edenilson dos Santos²

RESUMO

O chá é uma das bebidas mais consumidas no mundo, que pode ser feita a partir da infusão de folhas, flores, raízes ou ervas em água quente, sendo de origem na China, onde foi descoberto há mais de 5.000 anos. O chá verde é uma bebida feita a partir da infusão das folhas de *Camellia sinensis*, que também pode ser utilizada para produzir outros tipos de chás. Além disso, o chá verde é bastante rico em cafeína e catequinas, como a EGCG (epigallocatequina galato), que são potentes antioxidantes. A cafeína é um alcalóide que exerce um papel importante na estimulação do sistema nervoso. Ela pode ser encontrada em bebidas e diversos alimentos, como chá, café, refrigerantes e chocolate. Este trabalho tem por objetivo identificar cafeína presentes no extrato de chá verde e cafeína pura isolada do chá preto por HPLC-DAD, extrair os compostos químicos voláteis do chá verde e identificar os compostos químicos voláteis do chá verde por Microextração em Fase Sólida no modo headspace associada à Cromatografia a Gás acoplado a Espectrometria de Massas (HS-SPME/GC-MS). Alguns terpenos, cetonas e álcoois foram identificados no chá verde, bem como a cafeína, a qual foi isolada a partir do chá preto. Pesquisas que envolvam compostos a base de plantas medicinais vêm sendo amplamente estudados nos últimos, devido a grande busca por novos compostos naturais. Assim, as análises e caracterizações mencionadas neste trabalho, tanto do chá verde quanto do chá preto, mostraram resultados significativos em relação às suas identificações por meio das técnicas instrumentais utilizadas.

Palavras-chave: Extrato. Cafeína. Caracterização.

I. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

Os chás são a segunda bebida mais consumida globalmente e constituem fontes significativas de compostos fenólicos, que exibem notável atividade antioxidante. Os antioxidantes são substâncias que desempenham um papel crucial na inibição ou mitigação dos efeitos provocados por radicais livres. Na constituição química do chá é possível encontrar catequinas, cafeína, aminoácidos, vitaminas, taninos e minerais. Desta forma, pesquisas relacionadas a substâncias de natureza medicinal como chá verde e preto são de extrema importância, uma vez que essas bebidas fornecem diversos benefícios para a saúde. Além disso, a sua aplicação vem sendo responsável por apresentar ótimos resultados frente a prevenção e

¹ Voluntário do Programa de Iniciação Científica (PIVIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Integradas. e-mail: erik.carvalho@ufnt.edu.br

² Professor/Pesquisador do curso de Química. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Integradas. e-mail:edenilson.nicualu@ufnt.edu.br



tratamento de doenças. Sendo assim, trabalhos e pesquisas que envolvam estudos que explore e caracterize as propriedades de chá verde e cafeína como citados neste trabalho é de extrema importância, pois permite abrir discussões sobre o modo de caracterização dessa bebida, bem como explorar o processo de isolamento e purificação da cafeína que é amplamente aplicada em indústrias e na área farmacêutica.

II. BASE TEÓRICA

O chá verde tem diversas propriedades funcionais, que estão atreladas ao seu conteúdo fenólico. Essa bebida pode ser preparada por meio de infusão em água quente por 3 a 5 minutos de 1 g de folhas para 100 mL de água. Em sua constituição química, esses chás contam com a presença de diversas catequinas. As principais catequinas presentes no chá são (-) epigallocatequina galato (EGCG), (-) epigallocatequina (EGC), epicatequina galato (ECG) e catequina (C). Além da presença das catequinas, é possível detectar quantidades de flavonóides como quercetina e miricetina presente em sua constituição, (NAGLE; FERREIRA; ZHOU, 2006; WANG; PROVAN; HELLIWELL, 2000).

III. OBJETIVOS

Objetivo geral

- Conhecer a composição química do chá verde (*Camellia sinensis*).

Objetivos específicos

- Extrair os compostos químicos voláteis do chá verde e isolar cafeína;
- Identificar os compostos químicos voláteis do chá verde por Microextração em Fase Sólida no modo headspace associada à Cromatografia a Gás acoplado a Espectrometria de Massas (HS-SPME/GC-MS);
- Identificar cafeína presente no chá verde bruto aquoso por HPLC-DAD;



IV. METODOLOGIA

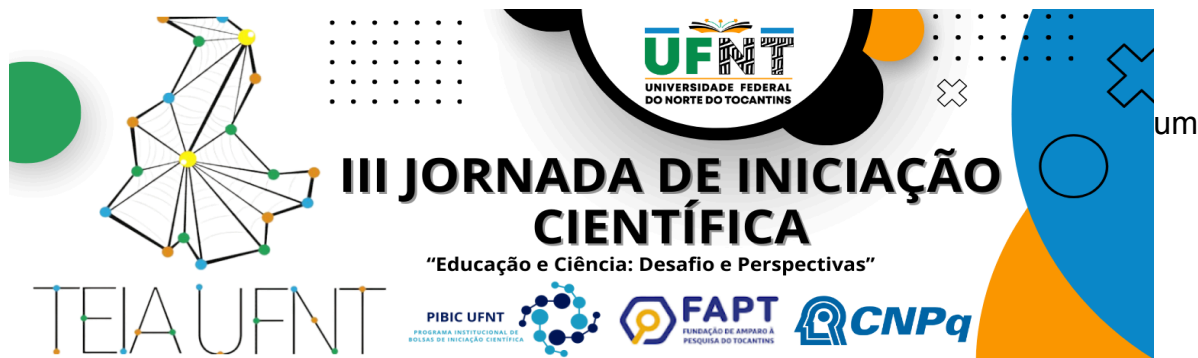
Tanto a amostra de chá verde quanto a do chá preto foram adquiridas de forma comercial. Os demais reagentes necessários para a realização dos experimentos foram disponibilizados pela instituição (UFNT). O procedimento de isolamento da cafeína foi realizado conforme uma adaptação do método descrito por Onami (1996) nos laboratórios da (UFNT).

O chá verde comercial foi preparado pesando-se 2g de folhas secas e realizando-se infusões em água mineral após fervura, com descanso de 10 minutos em triplicata. Após a infusão, foram retiradas alíquotas de 4 mL para extração dos voláteis por HS-SPME. As extrações ocorreram a 50°C, com exposição da fibra na headspace da amostra por 30 minutos.

A cafeína foi isolada a partir de 15 g de chá preto adicionando 150 mL de água deionizada e 7 g de carbonato de cálcio a um béquer a 100 °C por 20 minutos. Em seguida, a mistura foi filtrada, resfriada em banho de gelo (10 a 15°C) e submetida à extração com três porções de 20 mL de clorofórmio. A fase orgânica foi coletada e evaporada.

O chá verde e a cafeína foram analisados por HPLC-DAD. A solução estoque do chá verde foi preparado a partir de 0,02 g (20 mg) dissolvido em 500 µL de água e 500 µL de metanol. Para o preparo da solução trabalho, pipetou-se 250 µL da solução estoque e adicionou-se 750 µL de metanol, obtendo uma solução a 5 mg/mL.

O chá preto e cafeína foram analisados por HPLC-DAD. A solução estoque do chá preto foi preparada a partir de 0,01 g (10 mg) dissolvido em 1 mL de metanol. Para o preparo da solução trabalho pipetou-se 100 µL da solução estoque e adicionou-se com 900 µL metanol, obtendo uma solução de 1 mg/mL. As amostras foram injetadas em duplicatas a um volume de 30 µL. Utilizou-se o cromatógrafo líquido da Shimadzu 20AT, contendo uma bomba SPDM20A, degaseificador da fase móvel DGU-20A5R, coluna Shim-pack VP-ODS C18 nas dimensões de 150 L x 4,6 e



detector de arranjo de diodos (DAD) no modo varredura de 195 a 780 nm, composto por uma lâmpada de tungstênio e de deutério (D2W).

Foi utilizado cromatógrafo a gás (Agilent Technologies) 7890B, acoplado ao espectrômetro de massas 5977B no modo splitless. O gás de arraste empregado foi o hélio (99.999%) como fase móvel. A injeção foi feita no modo splitless, a temperatura do injetor foi de 250 °C e o tempo de dessorção da fibra de SPME foi de 10 min. Para otimização do processo de extração, o GC-MS foi operado em modo scan (m/z 40 a m/z 500). Os compostos orgânicos voláteis foram extraídos por headspace a 90 °C por 24 minutos e analisados em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas. O procedimento foi repetido cinco vezes, e uma série de *n*-alcanos (C10-C24) foi usada sob as mesmas condições para identificação dos compostos voláteis, comparando os dados com a biblioteca NIST e índices de retenção da literatura.

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os compostos voláteis identificados pelo método HS-SPME no chá verde. Foram caracterizados cerca de oito compostos diferentes, incluindo terpenos, aldeídos, éteres e cetonas.

Tabela 1. identificação dos compostos orgânicos voláteis de chá verde.

Nº	TR	Componentes	IR		Área do pico (%)
			IR	IR-lit	
1	6.714	limoneno	1031	1024	3,00
2	7.863	nonanal	1108	1100	4,87
3	8.656	mentona	1162	1158	1,36
4	9.350	decanal	1209	1201	3,02
5	9.996	carvona	1285	-	7,21
6	10.550	anetol	1698	-	8,84
7	12.437	ionona α	1436	1430	2,28
8	13.175	ionona β	1495	1487	8,86

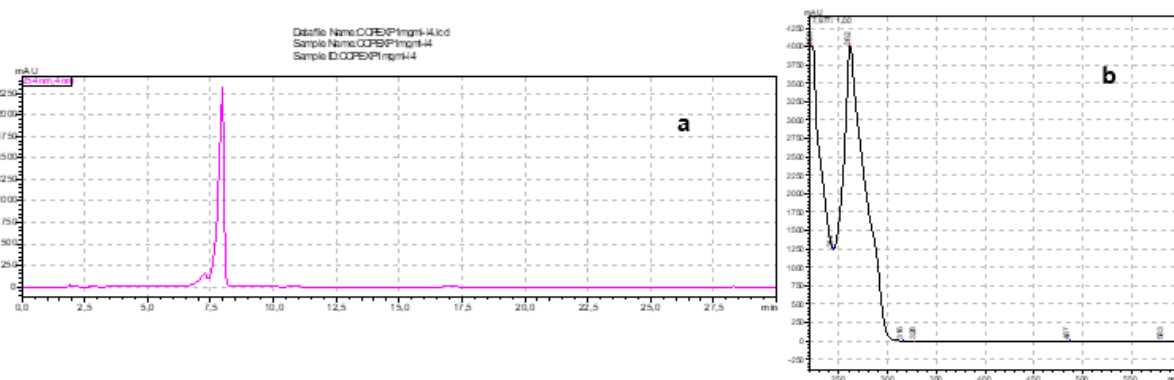
TR: Tempo de retenção; -: Não encontrado; IR: Índice de retenção experimental; IR-lit: Índice de retenção da literatura.



maioria dos compostos identificados nas replicatas das amostras de chá se repetiu. Os resultados confirmam outros estudos semelhantes, como o de Lin et al. (2012), que identificaram compostos como limoneno, nonanal, decanal e iononas. Os terpenos, predominantes nas amostras, são comuns em vegetais e foram caracterizados pela técnica HS-SPME. O trabalho de Lee et al. (2013) também confirma a presença de nonanal no chá verde, associado à qualidade sensorial do produto.

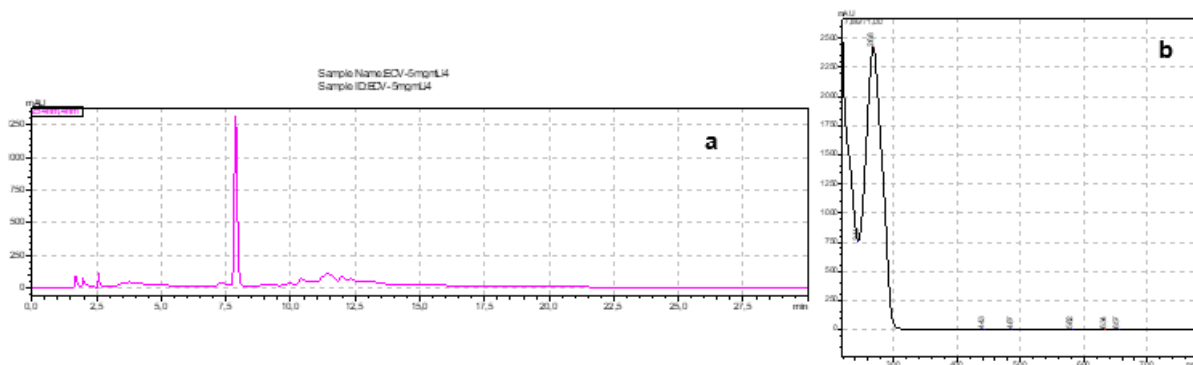
As amostras analisadas por HPLC-DAD foram o extrato de chá verde e a cafeína pura isolada do chá preto. Os cromatogramas obtidos foram satisfatórios ao identificar a presença da cafeína, figuras 1 e 2.

Figura 1 - Cromatograma HPLC extraído em 254 nm (a) e espectro de UV(b) da cafeína pura isolada do chá preto 1 mg/m

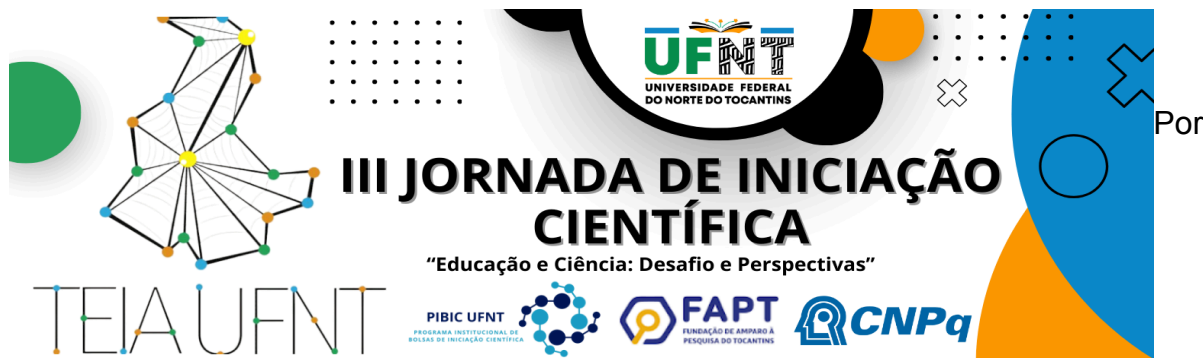


FONTE: Autoria própria (2024).

Figura 2- Cromatograma HPLC extraído em 254 nm (a) e espectro de UV (b) da cafeína no extrato de chá verde em metanol/ água a 5 mg/mL



FONTE: Autoria própria (2024).



comparação, pelos espectros UV da cafeína, Figuras 1 (b) e 2 (b) , verifica-se que a cafeína não apresentou alteração no seu espectro UV, apresentando seus picos máximos de absorção em 262 e 268 nm respectivamente. A absorção de radiação eletromagnética na região do ultravioleta (UV) na cafeína descrita por Holiday, (1930) apresenta um limite máximo de absorção entre comprimentos de onda de 271 e 275 nm, mostrando uma similaridade com o espectro de absorção mostrado neste trabalho nas figuras 1 e 2.

É possível observar tanto no cromatograma da figura 1a, quanto no cromatograma da figura 2 (a), a eluição da cafeína no início da corrida cromatográfica. Isso está atrelado a sua baixa retenção na fase estacionária. Uma vez que, a cafeína apresenta características de polaridade relativamente alta. Em sistemas cromatográficos que utilizam uma fase estacionária apolar, como as colunas de C18, como (HPLC), os compostos com polaridade significativa demonstram uma baixa interação com a fase estacionária. Sendo assim, esses compostos caracterizados são eluídos de maneira mais rápida, levando à detecção da cafeína em posições iniciais do cromatograma.

VI. CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises e caracterizações citadas neste trabalho do chá verde e cafeína isolada do chá preto, apresentaram resultados satisfatórios, que por consequência resultaram nas identificações de compostos voláteis e cafeína mediante as técnicas de GC-MS e HPLC-DAD respectivamente, que são técnicas largamente utilizadas para identificação e quantificação de componentes bioativos em plantas.

VII. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Allured: Carol Stream, 2007. 804 p.

Holiday, E. R.; **Biochem Journalem 1930**, 1930, 24, 619.



HUANG, J. et al. **O polifenol EGCG do chá verde alivia a anormalidade metabólica e o fígado gorduroso, diminuindo a absorção de ácidos biliares e lipídios em ratos.** Molecular Nutrition Food Research, v.62, p.1-12, 2018.

LEE, J. et al. **Compostos aromáticos voláteis em vários chás verdes fabricados.** *Molecules*, v.18, 2013.p.10024-1004,

LIN, J.;WANG, X.; GUO, Y.; XU, H.. **Volatile profile analysis and quality prediction of Longjing tea (*Camellia sinensis*) by HS-SPME/GC-MS.** J Zhejiang University – SCIENCE B, v. 12, n. 12, p. 972-980. 2012.

NAGLE, D. G.; FERREIRA, D.; ZHOU, Y. **Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): chemical and biomedical perspectives.** *Phytochemistry*, v. 67, n. 17, p. 1849-1855, 2006

ONAMI T., KANAZAWA H. **Um método simples para isolamento de cafeína de folhas de chá preto: uso de uma mistura de diclorometano-água alcalina como extrator.** *Jornal de Educação Química*, 73 (1996), pp. 556

VIII. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o auxílio de materiais e espaços oferecidos pela Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT).