



DETECÇÃO DE CAFEÍNA EM CÁPSULAS DE CHÁ VERDE ATRAVÉS DA CROMATOGRÁFIA EM CAMADA DELGADA

por *Rafael da Fonseca Prietsch*¹
*Maria Regina Soares Lopes*²

CURITIBA

¹**Autor: Rafael da Fonseca Prietsch**

Farmacêutico graduado pela Universidade Católica de Pelotas, UCPel. Rio Grande do Sul. Especialista em Manipulação Magistral Alopática, Pontifícia Universidade Católica, Porto Alegre. Rio Grande do Sul. Convênio Instituto Racine. São Paulo. Especialista em Desenvolvimento de Medicamentos pela Universidade Católica de Pelotas, UCPel. Rio Grande do Sul. Mestrando em Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas, UFPel. Rio Grande do Sul. rafaelprietsch@hotmail.com

²**Orientadora: Maria Regina Soares Lopes**

Graduação em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Católica de Pelotas. UCPel. Rio Grande do Sul. Docente do Curso de Farmácia e Bioquímica da Universidade Católica de Pelotas. UCPel. Rio Grande do Sul. Mestre em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Pelotas. UFPel. Rio Grande do Sul. Doutorado em andamento em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, UFPel. Rio Grande do Sul



Sumário

1. Introdução	3
Composição Química	4
1.4 Catequinas	5
1.5 Teaflavinas	6
1.6. Cafeína	6
2. Análise de Alcaloídes	8
2.1 Material e Método	8
2.1.1 Obtenção da amostra	8
2.1.2 Extração	8
2.1.3 Cromatografia em camada delgada	9
3. Conclusão	10
4. Referências Bibliográficas	11



1. Introdução

A planta que caracteriza o verdadeiro chá pertence à família das Teáceas, denominada *Camellia sinensis* (SCHMITZ, *et al.*, 2005). No Brasil, o arbusto é cultivado principalmente na região do Vale do Ribeira no estado de São Paulo, onde é utilizado para fazer chá preto (BLANCO, 2007).

A *Camellia sinensis* é um arbusto de 3-4m de altura, de copa piramidal e densa. Folhas simples, denteadas, pontudas, curtas e pecioladas de 4-7cm de comprimento. Flores de cor branca, regulares, hermafroditas, com corola de cinco pétalas e numerosos estames, aromáticas, solitárias ou em grupo de duas ou três nas axilas foliares. Os frutos são cápsulas com 1-3 sementes (LEON, 1987; LORENZI & MATOS, 2002).

Existem algumas de *Camellia Sinensis* disponíveis, conforme o método de preparação das suas folhas após a colheita. Folhas recém coletadas e imediatamente estabilizadas caracterizam-se como chá verde (sem fermentação), quando submetidas à fermentação rápida ou prolongada constituem o tipo oolong (parcialmente fermentado) e o chá preto (totalmente fermentado), respectivamente (BELITZ & GROSCH, 1997).

O processo fermentativo favorece a oxidação enzimática dos polifenóis presentes no vegetal, conferindo menor adstringência e cor mais intensa (SIMONETTI, 1990 in DUARTE, MENARIM, 2006).

Popularmente, a *Camellia Sinensis* tem sido usada em dietas alimentares, pois seus componentes químicos majoritários, os flavonóides e catequinas apresentam uma série de atividades biológicas, como antiinflamatória, antioxidante, quimioprotetora e anticarcinogênica (SCHMITZ, *et al.*, 2005).

A aceitabilidade do chá como bebida depende do gosto e do aroma do produto no momento de seu consumo. Este por sua vez depende da composição original da planta e das mudanças bioquímicas que sofre durante seu processamento. A sua composição química é caracterizada principalmente pela presença de polifenóis que perfazem cerca de 30% do extrato seco total e é a partir desses compostos que ocorrem as principais mudanças bioquímicas onde estão os principais princípios benéficos à saúde (CUNHA *et al.*, 2003).

Composição Química

A composição dos chás refere-se à composição das folhas do chá verde ou chá preto, matéria-prima para obtenção da infusão, sendo que esta pode variar dentro de um limite amplo de acordo com sua fisiologia, idade, condições de cultivo e tipo de processamento. A aceitabilidade do chá como bebida depende do gosto e do aroma do produto no momento de seu consumo. Este, por sua vez, depende da composição original da planta e das mudanças bioquímicas que sofre durante seu processamento, em função da enzima polifenoloxidase que, embora presente nas folhas, só age sobre os polifenóis durante o processo de fabricação, principalmente de chá preto. Embora com compostos diferentes, todos os chás apresentam substâncias com poder antioxidante (VARNAN & SUTHERLAND, 1994).

O chá é uma das fontes mais ricas em flavonóides. Flavonóides são polifenóis que ocorrem naturalmente em alimentos de origem vegetal e são comuns em dietas de todo o mundo. São metabólitos secundários de plantas e podem ser subdivididos em seis classes: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavanóis e antocianinas. Acredita-se que os flavonóides presentes em chás fazem deles alimentos funcionais. Os efeitos benéficos são geralmente atribuídos às catequinas e teaflavinas (MATSUBARA e RODRIGUES, 2008).

Os constituintes mais importantes de folhas de chá são as catequinas, que perfazem mais de 80% dos polifenóis e as teaflavinas, ambas responsáveis pela cor e sabor do chá. A enzima polifenoloxidase, da fração protéica, catalisa as reações de escurecimento, a cafeína, confere o efeito estimulante da bebida e os compostos voláteis, são responsáveis pelo aroma. Os minerais contribuem com 5%, fibras com 26%, aminoácidos livres com 4%, carboidratos com 7% e lipídios, além de taninos e ácidos fenólicos. A Tabela 1 apresenta a composição do extrato seco (%) das folhas frescas e fermentadas e da infusão de chá (CUNHA et al., 2003).

PRINCIPAIS POLIFENÓIS DO CHÁ VERDE

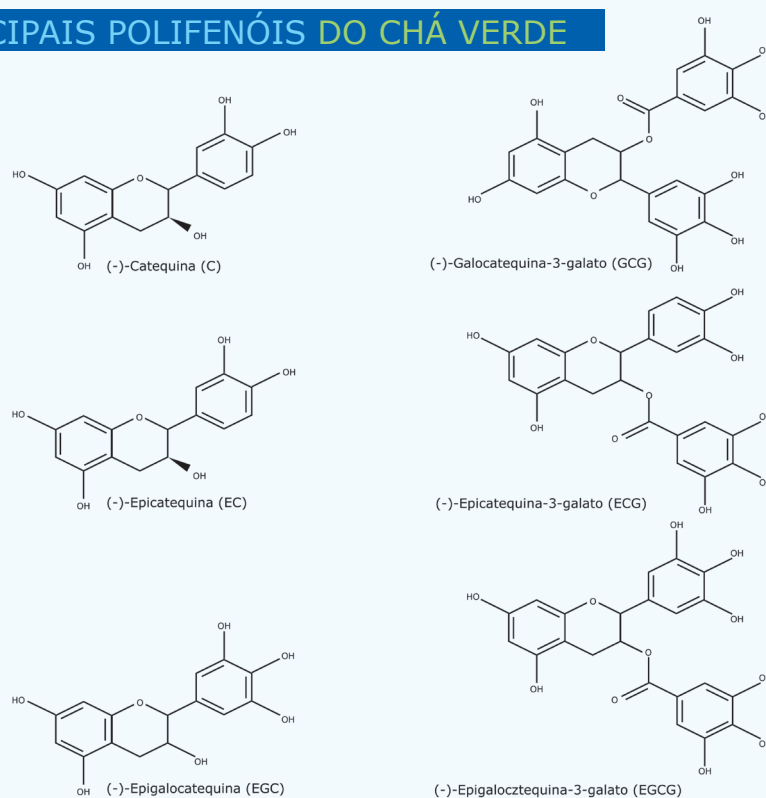


Figura 1- Principais polifenóis do chá verde.

Fonte: BÉLIVEAU, 2007, p.128.



1.5 Teaflavinas

As teaflavinas são formadas a partir da oxidação enzimática das catequinas. São compostos responsáveis por parte da qualidade do chá como cor alaranjada e sabor adstringente da infusão de chá preto (MATSUBARA e RODRIGUES, 2008).

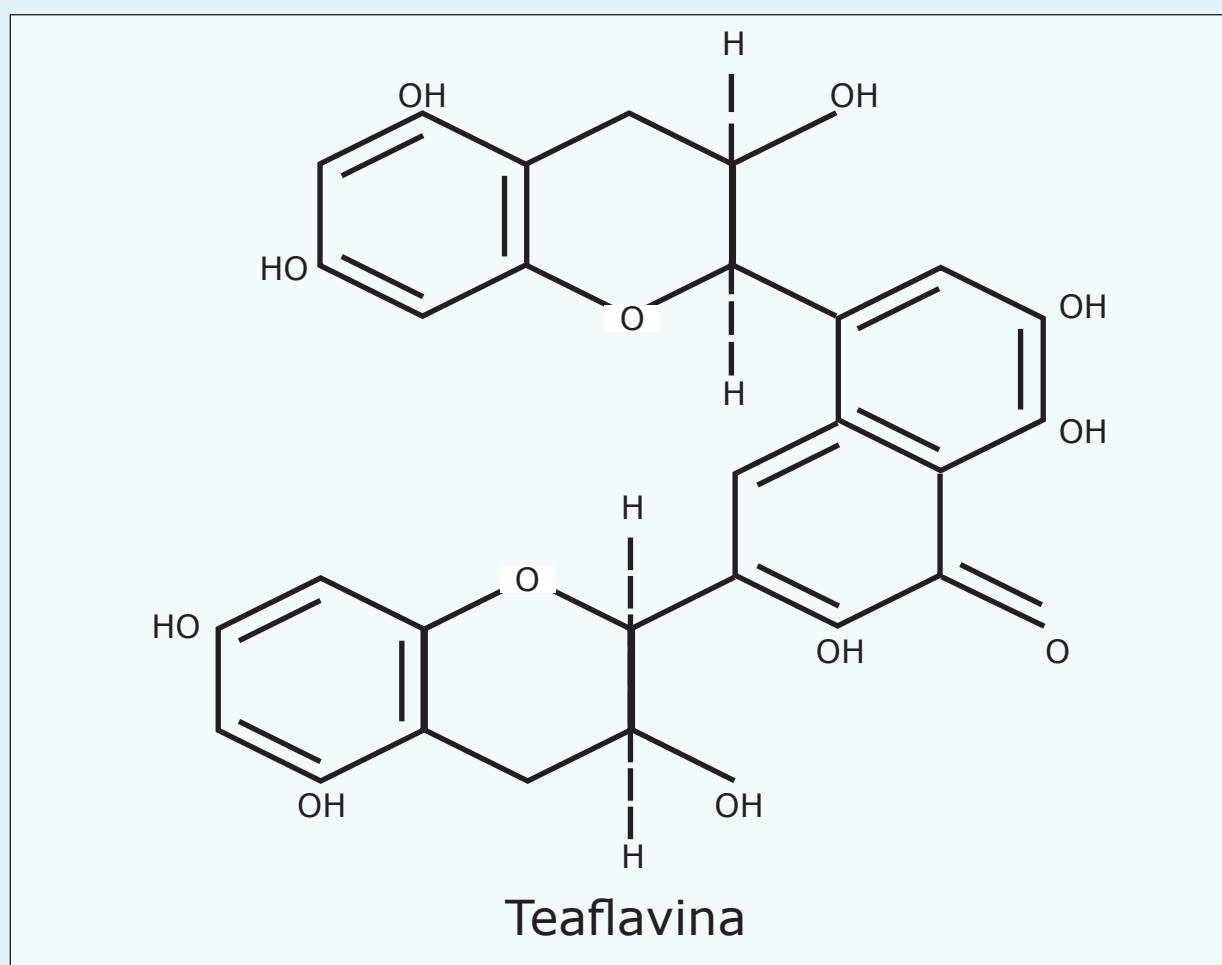


Figura 3 - Estrutura química da teaflavina.

Fonte: VARNAN & SUTHERLAND, 1994, p.182.

1.6 Cafeína

A cafeína é um composto que pertence ao grupo dos alcalóides. Na sua forma pura a cafeína é uma substância cristalina e apresenta um gosto amargo. Entre os efeitos da cafeína no organismo humano é de salientar a sua ação estimulante do Sistema Nervoso. A folha de chá contém teores normalmente compreendidos entre 2,5 e 5,5% do extrato seco, resultando de grande importância para o sabor do chá. O teor de cafeína varia nas diferentes partes da planta, sendo maior no gomo terminal e primeira folha. Quanto menor é a folha de chá, maior a quantidade de cafeína. Um copo comum de 180 mg de chá verde contém aproximadamente 130 mg de cafeína e chá preto 40 mg. Quanto maior o tempo de infusão em água do chá verde ou preto, maior a concentração de cafeína. A quantidade de cafeína é pouco alterada durante o processamento (VARNAN & SUTHERLAND, 1994; VENTURINI FILHO, 2005).

As folhas de chá contém a mesma quantidade de cafeína que o café, com base na matéria seca, mas o seu teor torna-se de 20% a 30% menor quando preparadas as infusões, pois são consumidas diluídas. A cafeína do chá tem um efeito mais suave que a cafeína do café no organismo, porque está ligada a taninos, o que assegura uma liberação suave e prolongada. O chá verde não fermentado tem 1/3 da quantidade de cafeína e o chá semi fermentado possui 1/2 do conteúdo de cafeína quando comparado ao chá fermentado (VARNAN & SUTHERLAND, 1994; VENTURINI FILHO, 2005).

A COMPOSIÇÃO DO CHÁ VERDE

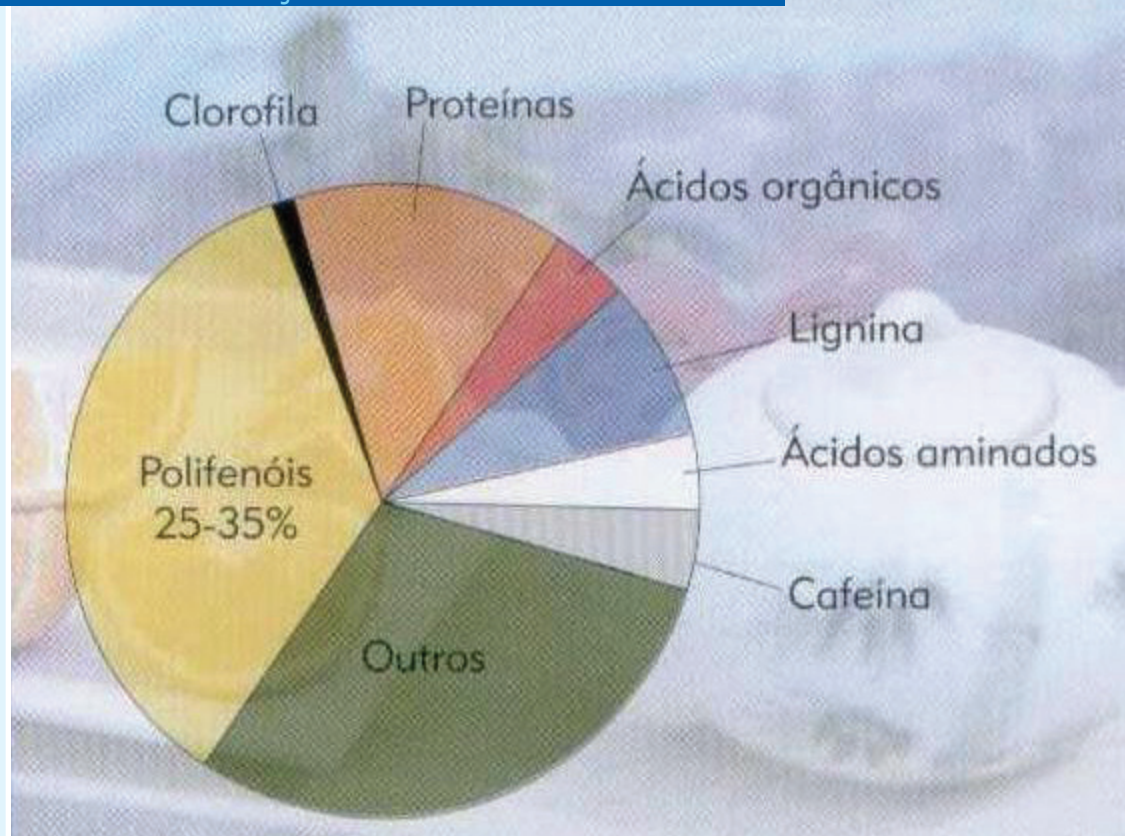


Figura 4 - Composição do chá verde

Fonte: BÉLIVEAU, 2007, p.127.

2. Análise de Alcalóides

2.1 Material e Método

2.1.1 Obtenção da amostra

Cápsulas de chá verde de 500 mg compradas em 5 farmácias de manipulação, foram adquiridas a fim de servirem como material vegetal a ser realizada a prospecção. O material adotado para análise passou pelo processo de seleção onde foram pesadas 3 alíquotas de 1,0 g de material, utilizada para extração de alcalóide.

2.1.2 Extração

As alíquotas obtidas conforme descrito no item anterior foi submetido ao refluxo com 10 ml de água e 10 ml de ácido sulfúrico 1N (Merck), por 10 minutos a uma temperatura de 80 C°. Os extratos foram filtrados a vácuo, alcalinizado com hidróxido de amônia 6N até atingir pH aproximadamente 10, medido com papel indicador de pH Merck. O extrato aquoso alcalino foi extraído por decantação três (3) vezes com 10 ml de clorofórmio. (Figura 5).

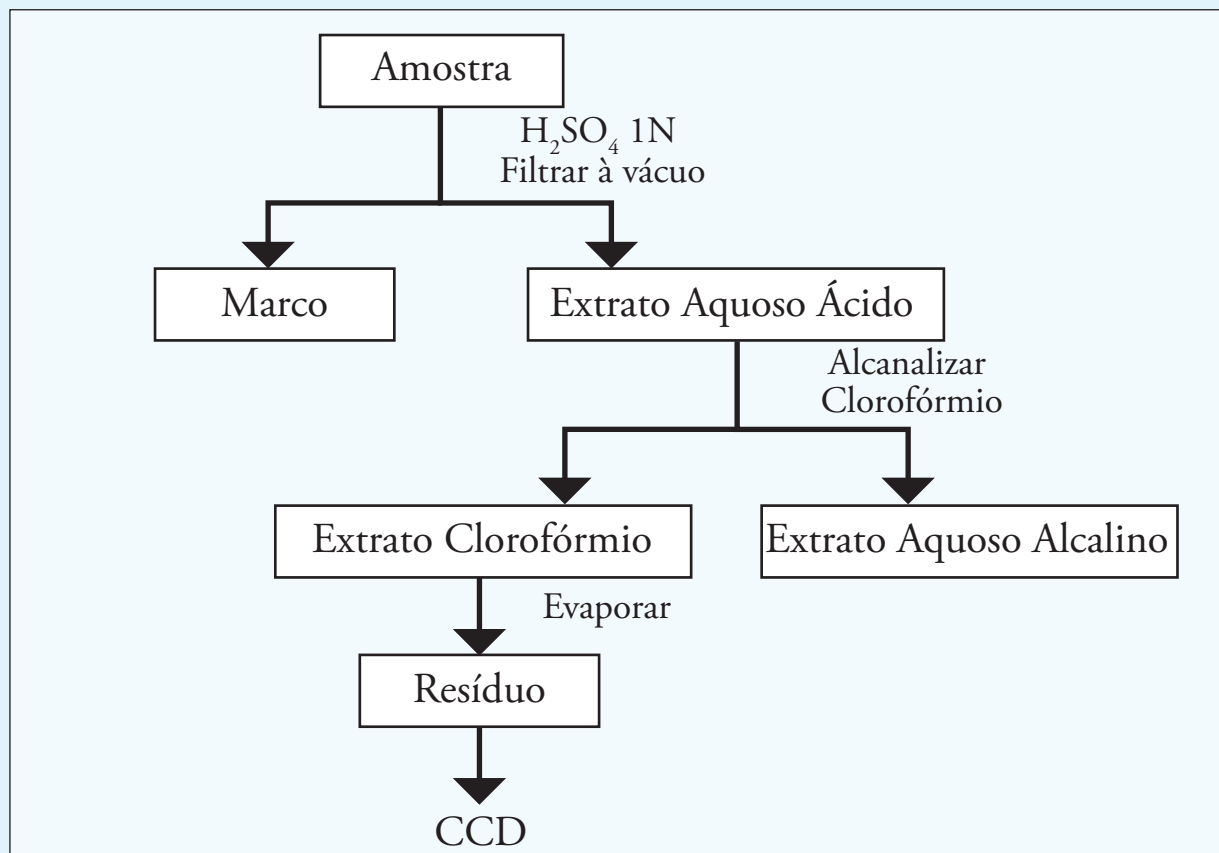


Figura 5 - Esquema de extração de alcalóides.



2.1.3 Cromatografia em camada delgada

A cromatografia de camada delgada (CCD) foi escolhida por dar informações rápidas e, portanto, aplicada freqüentemente para um *screening* inicial (DRÄGER, 2002).

A identificação qualitativa dos alcalóides dos extratos obtidos das cápsulas de chá verde foi realizada através de cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), utilizando-se placas do tipo sílica-gel G F254 (20x20) Merck.

Os resíduos das amostras e os padrões de referência (sigma) foram dissolvidos em metanol Merck para HPLC na proporção (25 metanol e 75 de água purificada), sendo preparadas conforme a Farmacopéia Portuguesa VII (2002).

As amostras foram aplicadas na linha base. A placa foi transferida para cuba cromatográfica saturada contendo: água R, metanol R, acetato de etilo R, (10:30:77 V/V/V).

Depois que o eluente ascendeu pela placa, até atingir o front de 10 cm. A placa é retirada da cuba e seca até que esteja livre do solvente (Farmacopéia Portuguesa VII, 2002).

Cada mancha corresponde a um componente separado na mistura original. Se os componentes são substâncias coloridas, as diversas manchas serão claramente visíveis. Para a visualização deve-se “revelar a placa”. (COLLINS *et al.*, 1995).

Um parâmetro freqüentemente usado em cromatografia é o “índice de retenção” (Rf). O Rf obtido é definido como a razão entre a distância percorrida pela mancha do componente e a distância percorrida pelo eluente.

Portanto:

$$Rf = d_c / d_s$$

Onde:

d_c = distância percorrida pelo componente da mistura.
 d_s = distância percorrida pelo eluente.

Tabela 1 - Valores de Rf dos padrões e das amostras

Amostra 10/03/09	Rf 0,65
Amostra 10/03/09	Rf 0,65
Amostra 10/03/09	Rf 0,65
Amostra 10/03/09	Rf 0,655
Amostra 10/03/09	Rf 0,655
Cafeína	Rf 0,65
Teobromina	Rf 0,535



3. Conclusão

Este experimento foi realizado com o objetivo de oferecer uma alternativa mais simples e menos onerosa de trabalho, principalmente como um método para detectar os alcalóides teobromina e cafeína, em cápsulas de chá verde (*Camellia sinensis*), realizado em cromatografia de camada delgada contra padrão.

O resultado obtido demonstra a similaridade das manchas, comprovando a presença da cafeína nas amostras analisadas. A proximidade entre os valores de R_f obtidos nos padrões e nas amostras e o espectro de absorção no UV detectou a presença de cafeína (Figura 6).

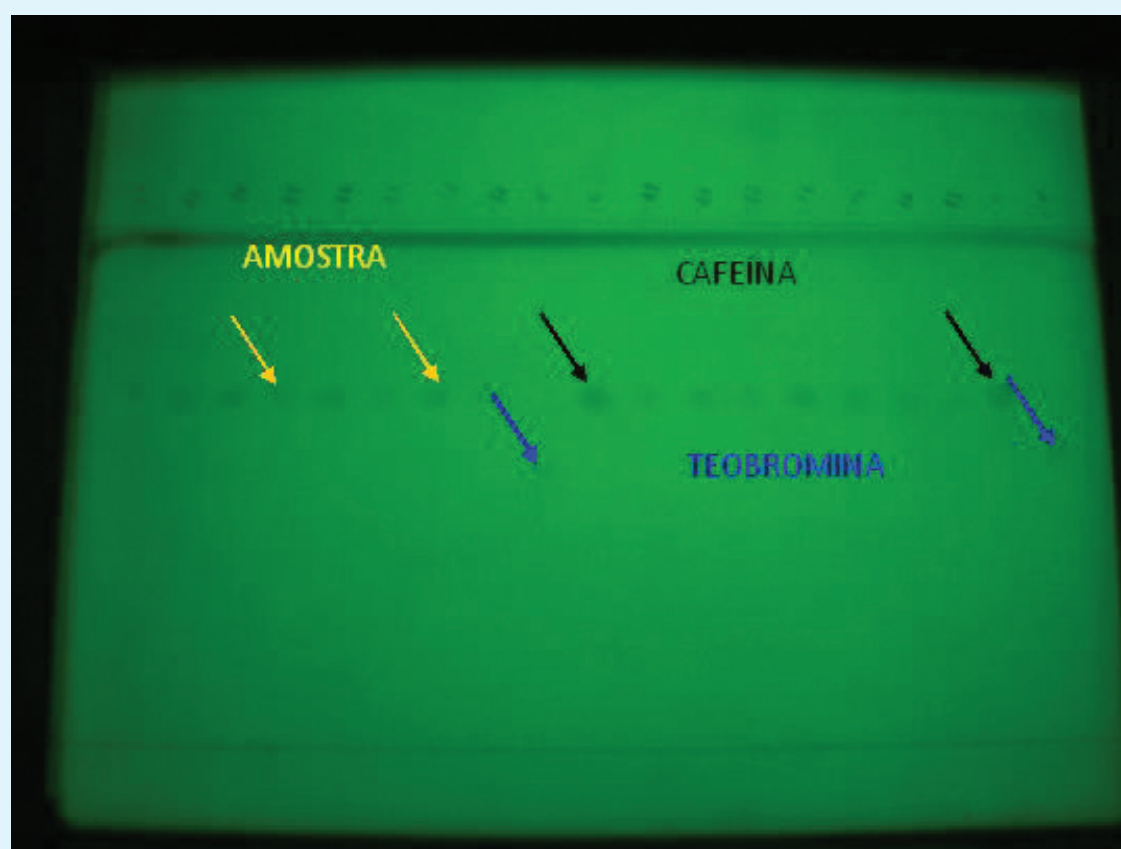


Figura 6 - A visualização das manchas foi obtida após a revelação em UV 254 nm.

O presente trabalho demonstrou a viabilidade de realização deste processo para um controle de qualidade para sais ou formas farmacêuticas que contenham metilxantinas.



4. Referências Bibliográficas

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los Alimentos**. 2.Ed. Zaragoza: Acribia, 1997. 1063p.

BÉLIVEAU, RICHARD. **Os alimentos contra o câncer: a prevenção e o tratamento do câncer pela alimentação**. Petrópolis: Vozes, 2007.

BLANCO, A. R. **Os benefícios do chá verde (Camellia Sinensis)**. Disponível em <http://jardimdeflores.com.br/sinergia/S08chaverde.htm> Acesso em 18 set. 2008.

CUNHA, A; SILVA, A; ROQUE, O. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. Lisboa Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003. 498p.

DUARTE, R. M.; MENARIM, O. D. **Morfodiagnose da anatomia foliar a caulinar de Camellia Sinensis (L.) Kuntze, Theaceae**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, p. 545-551, 2006,

DRÄGER, B. **Analysis of tropane and related alkaloids**. Journal of Chromatography A. Elsevier.com. Vol. 978, Issues 1-2, 29 November 2002, Pag. 1-35..

FARMACOPÉIA PORTUGUESA, 7.Ed., Lisboa: Imprensa Nacional, 2002, p.1309.

GRASSI D. *et al.* **Tea, Flavonoids, and Nitric Oxide-Mediated Vascular Reactivity**. The Journal of Nutrition, v.138, p.1554S-1560S, jun.2008.

LEÓN, J. **Botânica de los Cultivos Tropicales**. San José: IICA, 1987. 445p.

LORENZI, H; MATOS, F. A. **Plantas Medicinais no Brasil – Nativas e Exóticas**. 2.Ed. São Paulo: SP: Instituto Plantarum, 2002. 578p.

MATSUBARA, S; RODRIGUES, D. **Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil**. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n2/30189.pdf> Acesso em: 10 set. 2008.

SCHMITZ, W.; SAITO, Y. A.; ESTEVÃO, D.; SARIDAKIS, O. H. **Gren tea as a chemoprotector: Ciências Biológicas e da Saúde**, v.26, n.2, p. 119-130, 2005.



VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas – Tecnologia, química y microbiología**. Zaragoza: Acribia, 1994. p.487.

VENTURINI FILHO, W. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Edgard Blucher, 2005. 550p.