

OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA POR EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO EM BEBIDA ENERGÉTICA

Fernando Afonso Schneider¹, Lucélia Hoehne²

Resumo: Cada vez mais o controle de qualidade em bebidas é necessário para garantir um produto seguro e de qualidade ao consumidor. Este estudo busca aprimorar a análise de cafeína em bebida energética, baseando-se na utilização racional de diclorometano, visando a obter a melhor proporção de solvente utilizado e resultado de extração. Foi usada a metodologia de extração líquido-líquido para a determinação de cafeína, em uma proporção de 1:1 de amostra e de diclorometano. Outro ponto abordado neste trabalho refere-se à determinação de metais existentes no produto: sódio, potássio e cálcio. Essas avaliações podem aumentar o grau de controle do produto dentro da empresa e asseguram um produto dentro das especificações técnicas e dos parâmetros de legislação cabíveis. Foram comparados os resultados obtidos com a legislação vigente, que se trata da Resolução nº 273 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Palavras-chave: Cafeína. Bebida energética. Diclorometano.

1 INTRODUÇÃO

As bebidas energéticas surgiram no mercado em 1987 e, desde então, seu consumo tem sido cada vez maior, devido ao ritmo de vida cada vez mais frenético da população mundial. Essas bebidas são normalmente consumidas por jovens, que, com isso, procuram aumentar o estado de alerta da mente e do corpo, evitando o sono, obtendo sensação de bem-estar, estimulando o metabolismo e ainda auxiliando na eliminação das substâncias prejudiciais para o corpo (BALLISTRERI et al., 2008; CARVALHO et al., 2006).

Segundo Ferreira (2006), o uso de bebidas energéticas em combinação com álcool diminui os efeitos depressores do álcool e aumenta os efeitos excitatórios, causando sensações de prazer e, também, menos sensações de intoxicação, como: dor de cabeça, fraqueza, boca seca e coordenação motora mais ágil do que quando se ingere a bebida alcoólica sem a bebida energética. Entretanto, existem estudos, conforme Wiklund (2008), que indicam que a combinação de álcool com bebida energética pode causar arritmias e alterações no eletrocardiograma.

O maior risco em relação ao consumo excessivo de bebidas energéticas seria devido aos elevados níveis de cafeína na sua constituição. Os principais ingredientes da composição dos energéticos são cafeína, taurina, água, vitaminas e, ainda, uma fonte de energia, os carboidratos. Estes últimos atuam no fornecimento de energia e a cafeína estimula o sistema nervoso central, promovendo melhora física e psicológica (CARVALHO et al., 2006).

A cafeína pertence ao grupo das trimetilxantinas, que são oriundas da xantina (FIGURA 1). Também são pertencentes a esse grupo a teofilina e a teobromina. Essas drogas são do grupo dos estimulantes do sistema nervoso central e são eficazes em excitar ou restaurar as funções cerebrais e bulbares. Portanto, é considerada uma droga terapêutica e que não causa indução e dependência,

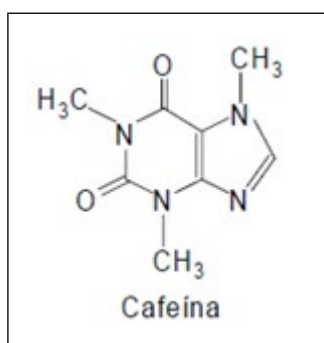
1 Acadêmico do curso de Química Industrial da Univates, Lajeado, RS. E-mail: fred@universo.univates.br

2 Doutora em Química. Coordenadora do curso de Química Industrial da Univates. E-mail: luceliah@univates.br

por isso vem sendo muito utilizada e livremente comercializada (ALTIMARI et al., 2001). A cafeína, apesar de ser um estimulante cerebral, em excesso pode causar algumas reações, como dores de cabeça, diarreia, taquicardia e aumento da pressão arterial. Sua dose letal é de 10 gramas para uma pessoa de 70 quilos (GASPAR et al., 2014).

A cafeína possui ação farmacológica variada, causando diversos efeitos, como alterações no sistema nervoso central, no sistema cardiovascular e homeostase de cálcio. Em relação às alterações no sistema nervoso central, ela causa redução do sono e mantém o indivíduo em estado de vigília, mas, em contrapartida, pode afetar o controle motor e causar irritabilidade em pessoas com quadro de ansiedade. Sobre o sistema cardiovascular, ela pode ser responsável por elevar a pressão arterial de forma contínua e, com isso, os indivíduos com hipertensão, doença coronariana e arritmia cardíaca devem reduzir a ingestão de cafeína (DE MARIA, 2007). A Figura 1 exibe a molécula de cafeína.

Figura 1. Fórmula estrutural da cafeína



Fonte: Altimari et al. (2001).

A extração da cafeína foi feita por extração líquido-líquido, em que a bebida energética recebeu alíquotas de diclorometano. Como a água é polar e o diclorometano é pouco polar, a interação entre eles é pequena, pois as forças de ligação da molécula de água são ligações de hidrogênio, que são muito fortes, e a força de ligação do diclorometano é do tipo Van der Waals, que é muito fraca. Essas ligações de hidrogênio da água não serão rompidas para formar uma nova ligação entre a água e o diclorometano. Portanto, as duas substâncias não se misturarão.

Em uma extração líquido-líquido, quando uma solução (soluto A em solvente 1) é agitada com um segundo solvente (solvente 2) com o qual é imiscível, o soluto A se distribui entre as duas fases líquidas. Quando as duas fases se separarem novamente em duas camadas de solvente distintas, o equilíbrio será alcançado de tal forma que a razão das concentrações do soluto em cada solvente C1 e C2 define uma constante. A constante, chamada de coeficiente de distribuição (ou coeficiente de partição) K, é definida pela fórmula:

$$K = C2 / C1$$

Na fórmula, C1 e C2 são as concentrações no equilíbrio, em g/L ou mg/ml, do soluto A no solvente 1 e no solvente 2, respectivamente. O coeficiente de distribuição tem valor constante para cada soluto considerado e depende da natureza dos solventes usados em cada caso.

É evidente que nem todo soluto A será transferido para o solvente 2 em uma extração simples, a não ser que K seja muito grande. Normalmente são necessárias várias extrações para remover

todo soluto A do solvente 1. Na extração do soluto de uma solução, é sempre melhor usar diversas porções pequenas do segundo solvente do que fazer uma extração simples com uma porção grande (OLIVEIRA, 2009).

O diclorometano é um solvente que requer certos cuidados em sua utilização, por se tratar de substância potencialmente tóxica. É inflamável a altas temperaturas e traz problemas de saúde se em contato com pele, olhos, ingerido ou inalado. Esse produto não é facilmente biodegradável e pode se infiltrar em águas, águas residuais ou solos (UNIFESP). Dessa forma, o uso desde racional torna-se interessante.

A maioria dos minerais pode acarretar doenças por deficiências bem definidas quando as ingestões são insuficientes e toxicidades quando as ingestões são abusivas. Quando se apresentam em níveis inaceitáveis, os elementos químicos, dentre eles os minerais, podem aumentar o risco de problemas de saúde, como doenças crônicas não transmissíveis, que incluem hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes e alguns tipos de câncer. Os minerais são uma grande classe de micronutrientes, sendo em sua maioria considerados essenciais. São tradicionalmente divididos em macrominerais e microminerais, os chamados elementos traço. A definição de macrominerais como necessários em quantidades de 100 mg/dia ou mais, como o cálcio (Ca) e o potássio (K), entre outros. Os microminerais são necessários em quantidades muito menores, em torno de 15 mg/dia, como o ferro (Fe) e o zinco (Zn) (AVEGLIANO, 2009).

Para a determinação de metais na bebida energética utilizou-se a espectrometria de emissão por chama, o qual é o mais simples e comum dos métodos espectrométricos conhecidos.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária controla esse segmento de produtos sob a Resolução RDC nº 273, de 22 de setembro de 2005, que revogou a Portaria nº 868, de 03 de novembro de 1998. Nesta resolução, a bebida energética fica definida como composto líquido pronto para o consumo. Além disso, a Resolução traz informações de regulamentos para a rotulagem desse produto e informações sobre substâncias que integrem sua composição. Segundo a Resolução nº 273, fica permitida a adição de cafeína até o limite máximo de 35 mg/100 ml. O objetivo principal deste trabalho é a redução na utilização de diclorometano e tornar o método simples, confiável e rápido, a fim de possibilitar sua implantação em ambiente industrial, que requer cada vez mais rapidez, baixo custo e confiabilidade. Além disso, foi feita avaliação das concentrações de metais presentes nas amostras.

2 METODOLOGIA

O diclorometano foi o solvente utilizado, pelo fato de a cafeína apresentar alta solubilidade no mesmo. O diclorometano pode ser substituído por clorofórmio, porém o valor comercial do clorofórmio e sua toxicidade maior que a do diclorometano desfavorecem sua utilização. A solubilidade da cafeína é cerca de nove vezes superior no diclorometano do que na água (THOMAZ).

A quantificação da cafeína foi realizada por leitura em espectrofotômetro de absorção molecular da marca Thermo Scientific, modelo Genesys 10S UV-VIS, no comprimento de onda de 272 nm (DE MARIA, 2007).

A determinação de metais na amostra foi realizada utilizando-se fotômetro de chama da marca Digimed, modelo DM-62. Segundo Müller (2003), para análise de metais, como sódio, potássio, cálcio e lítio.

Neste trabalho foram coletadas amostras de três diferentes lotes de bebida energética, intituladas de lote 1, lote 2 e lote 3, da empresa de bebidas Chiamulera, localizada no Vale do Taquari, no estado do Rio Grande do Sul. As amostras foram analisadas em triplicata, sendo elas

colocadas em banho de ultrassom da marca Unique, modelo USC 1450, a fim de retirar todos os gases dissolvidos na bebida e que possam interferir na sua análise.

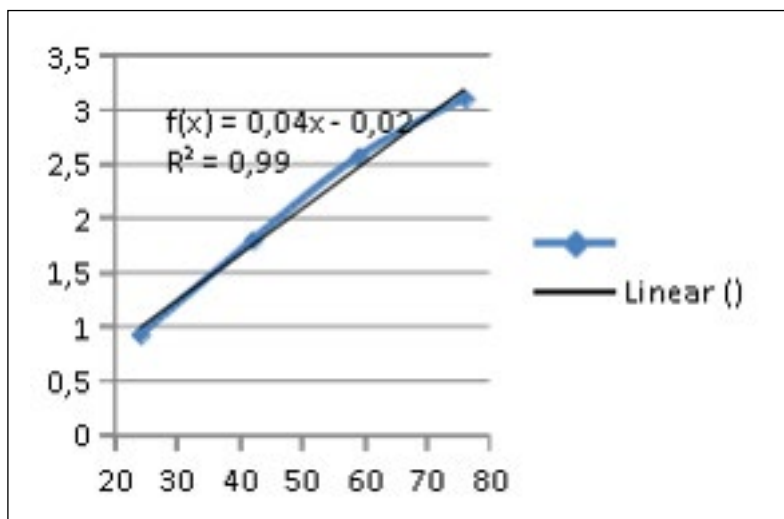
A metodologia oficial, que é baseada no método utilizado por Welter (2011), na determinação da cafeína em energéticos, utiliza 20 ml de clorofórmio para cada uma das cinco lavagens realizadas. O total então de solvente utilizado é de 100 ml por análise. A proposta deste trabalho é utilizar diferentes proporções, de 1:1 e 1:2, de amostra e de diclorometano para cada três lavagens.

3 RESULTADOS

A confecção da curva necessitou de solução-mãe de cafeína de 1.000 ppm, sendo posteriormente feitas soluções para os seguintes pontos: 0, 20, 40, 60 e 80 mg/L. Essas amostras foram avaliadas em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 272 nm.

Com esses resultados pôde-se construir a curva, que repassou a equação necessária para quantificação das amostras. A Figura 2 evidencia os resultados.

Figura 2 - Curva de calibração e equação da reta



Fonte: Elaborado pelos autores.

Até se chegar ao número adequado para a extração completa e consciente da cafeína da bebida, vários testes de proporções variadas foram realizados. Testaram-se, por exemplo, proporções de 1:1 e 1:2. As quantias testadas seguem descritas abaixo, segundo Tabela 1.

Tabela 1 - Proporções testadas

Quantia de bebida energética	Diclorometano (3 lavagens com quantia descrita)
0,5 ml	0,5 ml
0,5 ml	1 ml
1 ml	1 ml
1 ml	2 ml
5 ml	5 ml
5 ml	10 ml

Fonte: Elaborado pelos autores.

Com os resultados obtidos nas leituras do equipamento espectrofotômetro, pode-se avaliar que quantias muito baixas de amostra, por exemplo, 0,5 ml, não possibilitavam a extração correta e condizente com a realidade do produto. Por outro lado, ao se dobrar a quantia de diclorometano na extração, o resultado ficava menor do que se utilizada a proporção de 1:1 (bebida e solvente). Com o dobro do solvente utilizado e mantendo-se a quantidade inicial de bebida energética, pode ocorrer de a cafeína estar mais dispersa no solvente, deixando as moléculas mais afastadas umas das outras, interferindo dessa forma na leitura do equipamento.

Além desses ensaios, pesou-se 0,004 g de cafeína P.A. A esses foram adicionados 20 ml de bebida energética e, então, avolumou-se a 100 ml com diclorometano. Com essa solução, transferiu-se 1 ml da mesma para um funil de separação, adicionaram-se 4 ml de água e realizaram-se as três lavagens de 5 ml de diclorometano cada.

A finalidade desse teste foi verificar se o teor total da cafeína do meio era extraído, uma vez que se tinha uma quantidade conhecida e uma alíquota do produto a ser avaliado.

O resultado expressou recuperação de 80% de cafeína nesse teste especificamente.

Resolveu-se utilizar então uma nova condição de teste, em que se usaram 1 ml de bebida energética, 4 ml de água deionizada e, então, realizaram-se três lavagens de 5 ml cada. Os resultados obtidos com esse teste foram satisfatórios. A Tabela 2 evidencia os resultados obtidos nas bebidas por lote analisado.

Tabela 2 – Quantificação de cafeína por lote

Lote	Quant. na análise	Cafeína Rótulo
01	34 mg/100 ml	35 mg/100 ml
02	35 mg/100 ml	35 mg/100 ml
03	34 mg/100 ml	35 mg/100 ml

Fonte: Elaborado pelos autores.

Já no caso das leituras de metais nas amostras, foi necessário utilizar supressores de sinal. Nesse caso, utilizou-se solução de 5% de lantânio e cloreto de cézio P.A. Os mesmos se fizeram necessários para eliminar interferentes que pudessem alterar o real resultado das amostras.

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3 para os três lotes.

Tabela 3 – Quantificação de metais nos três lotes

Lote	01	02	03
Na	104,5 ppm	104,5 ppm	103,7 ppm
K	15,4 ppm	15,0 ppm	15,2 ppm
Ca	51,2 ppm	47,9 ppm	50,8 ppm

Fonte: Elaborado pelos autores.

4 CONCLUSÃO

No presente trabalho, a otimização do método para a determinação de cafeína em bebidas energéticas permitiu reduzir o volume de solvente para 15 ml, ou seja, 5 ml para cada uma das três lavagens realizadas.

Esse método foi eficiente para a avaliação do teor de cafeína em bebidas energéticas. Observa-se que o teor apresentado nas análises se enquadra com o rótulo e com a legislação vigente para o produto.

Quanto aos níveis de metais da bebida, como não há legislação específica, não se pode comparar, porém ilustra ao consumidor a sua quantificação na constituição do produto.

REFERÊNCIAS

ALTIMARI, L.R. et al. Caffeine: nutritional ergogenic in sport. **Rev. Bras. Ciên. e Mov.** p. 57-64, 2001.

AVEGLIANO, R.P. **Estudo de dieta total no estado de São Paulo: Estimativa de ingestão dietética de elementos Tóxicos (arsênio e cádmio) e essenciais.** Tese de doutorado, USP. 2009.

BALLISTRERI, M. C. et al. O uso de bebidas energéticas entre estudantes de educação física. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, 2008.

CARVALHO, J. M. et al. Perfil dos principais componentes em bebidas energéticas: cafeína, taurina, guaraná e glucoronolactona. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 65, p. 78-85, 2006.

DE MARIA, C.A.B. et al. Revisão sobre métodos de análises. **Química. Nova**, v. 30, No. 1, p. 99-105, 2007.

FERREIRA, S. E. et al. Effects of Energy Drink Ingestion on Alcohol Intoxication. **Alcohol Clin Exp Res**, v. 30, p 598-605, n° 4, 2006.

GASPAR, B. R. A. et al., Determinação de cafeína e taurina em bebidas energéticas comercializadas no estado do rio de janeiro por cromatografia líquida de alta eficiência. **37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Rio de Janeiro, 2014.

MÜLLER, D.; **Controle de qualidade de margarinas analisando níquel, alumínio e sódio através da espectroscopia de absorção atômica e espectroscopia de emissão em chama.** Florianópolis: UFSC. 2003.

OLIVEIRA, D.B. de. **Extração por solvente.** FINOM. 06/2009. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAATlwAG/extracao-por-solvente>>. Acesso em: 15 out. 2014.

SANTOS, J. S. et al. **Estudo da polaridade e volume do solvente extrator na extração de cafeína em guaraná em pó.** Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

UNIFESP. **Ficha de Emergência, Diclorometano.** Disponível em: <http://www.unifesp.br/reitoria/residuos/fichas-de-emergencia/narquivos/d/diclorometano_dcm_onu1593.doc>. Acesso em: 26 ago. 2014.

WELTER, S.Q. **Extração e Quantificação de Cafeína e Energéticos através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Espectrofotometria.** Pato Branco: UTFP. 2011.

WIKLUND, U. et al. Influence of energy drinks and alcohol on post-exercise heart rate recovery and heart rate variability. **Clin Physiol Funct Imaging** v. 29, p 74-80, 2009.