Brazilian Journal of Development

Estudo comparativo de metodologias diferenciadas aplicadas na extraçao de cafeína em bebidas energéticas

Comparative study of differentiated methodologies applied in the extraction of caffeine in energy drinks

DOI:10.34117/bjdv6n2-245

Recebimento dos originais: 30/12/2019
Aceitação para publicação: 21/02/2020

Maria Eduarda Lopes Eberle
discente no curso Técnico em Agroindústria pelo Instituto Federal do Paraná – Campus Paranavaí,
E-mail: dudaeberle2002@gmail.com
Jociele Clara Conceição dos Santos, discente no curso Técnico em Agroindústria pelo Instituto Federal do Paraná – Campus Paranavaí,
E-mail: jocieli_clara@hotmail.com

Mykaela de Campos de Oliveira
Graduada em Química (Licenciatura) pelo Instituto Federal do Paraná – Campus Paranavaí,
E-mail: myka0301@hotmail.com

Guilherme Roque Zidiotti
Graduando em Química (Licenciatura) pelo Instituto Federal do Paraná – Campus Paranavaí, E-mail: guilherme_13zidiotti07@hotmail.com
Tamires dos Santos de Lima, Graduanda em Química (Licenciatura) pelo Instituto Federal do Paraná – Campus Paranavaí,
E-mail: tamiresantos.lima@gmail.com

Milena Nascimento Cabreira
Graduanda em Química (Licenciatura) pelo Instituto Federal do Paraná – Campus Paranavaí,
E-mail: milena.quimicasim@gmail.com

Carlos Eduardo Barão
Doutor em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá, Instituição: Instituto Federal do Paraná. Endereço: Avenida Jose Felipe Tequinha, 1400, Jardim das Nações, Paranavaí – PR, Brasil.
E-mail: carlos.barao@ifpr.edu.br

Vanessa Aparecida Marcolino
Doutora em Ciências de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas, Instituição: Instituto Federal do Paraná. Endereço: Avenida Jose Felipe Tequinha, 1400, Jardim das Nações, Paranavaí – PR, Brasil.
E-mail: vanessa.marcolinol@ifpr.edu.br

RESUMO
A cafeína é um composto químico que pertence à classe dos alcaloides, que possui propriedades básicas e contém nitrogênio em sua composição. As bebidas energéticas têm como um dos principais componentes a cafeína, sendo estas bebidas utilizadas para aumentar a resistência física, o estado de alerta e evitar o sono, entre outras coisas. O presente estudo consiste na extração e quantificação da

Brazilian Journal of Development

cafeína em bebidas energéticas através de duas metodologias de extração: oficial e alternativa. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa nos valores de concentração de cafeína nas diferentes marcas de bebidas energéticas analisadas comparando as duas metodologias de extração. Portanto, a metodologia alternativa poderia ser utilizada em detrimento da metodologia oficial, gastando uma menor quantidade de solvente e reagentes que poderiam agredir o meio ambiente, apresentando uma redução de 80% no uso do solvente orgânico.

Palavras-chave: Extração de cafeína, Espectrofotometria UV-Vis, bebidas energéticas

ABSTRACT
Caffeine is a chemical compound that belongs to the class of alkaloids, which has basic properties and contains nitrogen in its composition. Caffeine as a majority component of energy drinks and is used to increase physical resistance, alertness and avoid sleep, among other things. The present study consists of the extraction and quantification of caffeine in energy drinks through two different methodologies, one considered official (AOAC) and the other alternative, performing a comparative study and verifying the equivalence of these results. The analyzes showed that there was no significant difference in the quantified caffeine concentration values in the different brands and lots of energy drinks analyzed comparing the two extraction methodologies. Therefore, the alternative methodology could be used to the detriment of the official methodology, spending a smaller amount of solvent and chlorinated reagents that would reduce the ecological impact of these analyzes in a proportion of up to 80% reduction in the use of the organic solvent.

Keywords: Caffeine extraction, UV-Vis spectrophotometry, energy drinks

1 INTRODUÇÃO

Dentre os principais componentes das bebidas energéticas, além de açucares e extratos de plantas, encontram-se a taurina, cafeína, guaraná, entre outras. Essas bebidas são caracterizadas por conter altos níveis de cafeína, sendo esta substância a responsável por manter a sensação de dinamismo[9].

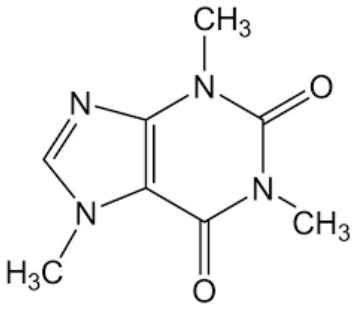


Figura 1. *Estrutura química da molécula de cafeína*

O uso de bebidas energéticas é comum no Japão desde a década de 60, com o lançamento de um novo energético no mercado local. Tal produto foi comercializado primeiramente para trabalhadores assalariados, com o único objetivo de incentivá-los e ajuda-los a trabalhar por um período maior sem se sentirem dispersos. Atualmente, jovens e adultos são os principais responsáveis

pelo alto consumo desse tipo de bebida, pois os fabricantes afirmam que essas bebidas foram criadas a fim de aumentar a resistência física, permitir reações mais velozes, aumentar o estado de alerta do indivíduo, evitar o sono, trazer o sentimento de bem estar e por fim, estimular o metabolismo, fazendo com que o corpo elimine substâncias nocivas[9].

Dentre os componentes dos energéticos, encontra-se a cafeína (1,3,5-trimetilxantina), que pertence ao grupo das xantinas que são bases nitrogenadas da classe dos alcaloides, incluindo a atropina, cocaína, morfina, nicotina e outras várias substâncias[4]. A cafeína pode ser encontrada em grande quantidade em sementes de café ou em folhas de chá-verde. A cafeína também pode ser encontrada em outros produtos de origem vegetal, como o cacau, guaraná e erva mate[5].

No organismo humano, a cafeína tem ação estimulante no sistema nervoso central, diminuindo a fadiga do indivíduo e aumentando a sua concentração. Porém, alguns estudos revelam que a ingestão de cafeína em excesso pode vir a causar alguns distúrbios, como insônia e dor de cabeça, além de poder causar também doenças coronarianas e até evoluir para alguns tipos de câncer[8].

Os benefícios e malefícios das xantinas, incluindo a cafeína, já foram por muitas vezes objeto de estudo em diversas áreas e ainda continuam sendo estudadas. O estímulo ao Sistema Nervoso Central é um benefício causado pela ingestão de cafeína, diminuindo a fadiga e aumentando o estado de alerta. Outro benefício causado pela ingestão de cafeína é o estímulo à broncodilatação, induzindo assim o aumento da respiração. No sistema cardiovascular ocorre o aumento da contratibilidade do coração, quando ingerida em doses elevadas. Possui, ainda, ação diurética, podendo eliminar íons pela urina, além de estipular a secreção gástrica[6].

A ingestão em excesso da cafeína pode fazer com que o indivíduo sofra com palpitações, convulsões, dores no estômago, dores de cabeça, falta de sono, náuseas, vômito, impotência, ou até depressão. Ainda que moderadas, doses de cafeína podem causar, em alguns indivíduos, sensações intensas de ansiedade, medo ou até pânico. Ainda pessoas que possuem um histórico moderado do uso dessa substância tendem a sentir tensão e ansiedade após a ingestão de 400 mg ou mais da mesma. No entanto, pessoas que diariamente consomem 600 mg de cafeína (cerca de 6 xícaras de café), após pararem de usar tal substância, sentem letargia, irritabilidade e cefaleia, por exemplo. Uma quantidade exagerada de cafeína, de 5 a 12g, equivalentes a 100 xícaras de café, pode ser letal, levando o indivíduo a ter arritmias cardíacas, convulsão, estado de coma, edema pulmonar e até parada respiratória[4].

Em produtos energéticos líquidos que estejam prontos para consumo, o limite máximo de cafeína é de 350 mg/L. O produto deve informar o teor de cafeína, quando presente, em seu rótulo e ainda deve apresentar a advertência em destaque e escrita em negrito: “Idosos e portadores de enfermidades: consultar o médico antes de consumir este produto"[3].

Brazilian Journal of Development

A cafeína pode ser analisada e quantificada por meio de alguns métodos que já se mostraram eficientes, como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a espectrofotometria[5]. A análise estudada neste trabalho é a espectrofotometria de absorção e, segundo Vinadé e Vinadé[10], as metodologias espectroscópicas de análise possuem a interação da radiação eletromagnética com a matéria como uma das suas características. A relação da proporção entre concentração de uma espécie e a quantidade de radiação absorvida por ela é o que possibilita a quantificação de algum composto em determinada amostra.

De acordo com Holler[7] ao atravessar uma amostra, a radiação eletromagnética pode assumir certas frequências que podem ser seletivamente removidas por absorção, processo no qual a energia eletromagnética é transferida para os átomos, íons ou moléculas com compõe determinada amostra. Portanto, o presente estudo objetivou determinar, por meio da utilizaçao de duas metodologias diferentes, o teor de cafeína presente em amostras de 3 marcas diferentes de energéticos, comparando a eficiência e o custo de cada uma, utilizando espectrofotometria de absorção molecular para quantificação de cafeína nas amostras, além da comparação dos resultados com o rótulo dos produtos e com a legislação vigente.

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo objetivou analisar diferentes marcas de energéticos e realizar o controle de qualidade desses produtos referente à quantidade de cafeína presente nas amostras que serão analisadas. Para isso serão analisadas 3 marcas diferentes de energéticos (Energético A, Energético B e Energético C), de lotes distintos, que foram comprados em mercados locais na cidade de Paranavaí-PR. Para as análises foi necessária a extração da cafeína das amostras, quando se utilizou a metodologia oficial, descrita na A.O.A.C.[1] adaptada, e uma metodologia alternativa (Líquido-Líquido), em ambas as metodologias a cafeina foi quantificada em espectrofotômetro de absorção molecular.

Para os testes, foram analisados os lotes 1608913, 1608917 e 1608936 do energético A, os lotes 20030846, 20030847 e 20030851 do energético B e os lotes 18164, 18166 e 18177 do energético C, sendo cada lote analisado em triplicata.

2.2 METODOLOGIA DE EXTRAÇÃO OFICIAL

Foram pipetados de 30 mL da amostra descarbonatada da bebida energética para um funil de separação de 250 mL. Em seguida, foram adicionados 10 mL de uma solução de permanganato de potássio 1,5% e a mistura foi agitada. Após 5 minutos, foi adicionada, com agitação contínua, uma solução redutora (solução com 5 g de sulfito de sódio e 5 g de tiocianato de potássio dissolvidos em

Brazilian Journal of Development

60 mL de água). Após isso, foram adicionados 2 mL de uma solução de ácido fosfórico (15 mL de ácido em 85 mililitros de água) com constante agitação. Depois disso, 2 mL de uma solução de hidróxido de sódio 25% foram adicionados à mistura, com agitação. A cafeína foi extraída com três porções de 30 mL de clorofórmio. Após a separação, a camada inferior foi separada e filtrada em sulfato de sódio anidro e algodão, sendo os filtrados recolhidos no mesmo balão volumétrico de 100 mL. A haste do funil foi lavada com 2 mililitros de clorofórmio após cada extração. O volume do balão foi completado com clorofórmio e a absorbância foi determinada a 272 nm, usando clorofórmio como branco.

2.2.1 Construção da curva padrão

Para construção da curva padrão, foram preparadas cinco soluções padrão de cafeína em 5 balões volumétricos de 25 mL, com concentrações de 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L e 25 mg/L. O espectrofotômetro de absorção molecular foi calibrado com um branco de clorofórmio e a curva foi construída analisando as soluções à 272 nm utilizando absorbância em função das concentrações das soluções padrão. As leituras foram realizadas contra um branco de clorofórmio. A concentração de cafeína nas amostras foi calculada através da equação da reta obtida na curva de calibração.

2.3 METODOLOGIA DE EXTRAÇÃO ALTERNATIVA (LÍQUIDO-LÍQUIDO)

Foram pipetados 3 mL da amostra descarbonatada da bebida energética para um tubo de ensaio. Em seguida, foram adicionados 3 mL de diclorometano ao tubo de ensaio e a mistura foi agitada em vortex, por 20 segundos. Após a agitação e a separação das fases, a fase inferior foi separada e analisada em espectrofotômetro de absorção molecular a 272 nm. Quando a concentração de cafeína se mostrou elevada, foram realizadas diluições pipetando-se 1 mL da fase inferior e adicionando-a em 9 mL de diclorometano. A análise foi repetida para proporções de 4 e 5 mL da bebida energética com 4 e 5 mL de diclorometano.

2.3.1 Construção da curva padrão

Foram preparadas, em balões volumétricos de 25 mL, cinco soluções padrão de cafeína com concentrações de 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L e 25 mg/L. As soluções foram analisadas no espectrofotômetro UV-Vis a 272 nm, calibrado com um branco de diclorometano, obtendo resultados de absorbância em função da concentração de cafeína. A curva de calibração proporcionou uma equação da reta, que foi utilizada para calcular a concentração de cafeína presente nas bebidas energéticas.

Brazilian Journal of Development

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MÉTODO DE EXTRAÇÃO OFICIAL

A quantificação de cafeína extraída pela metodologia oficial foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS, a 272 nm. Foram analisados 3 lotes de cada amostra de bebida energética em triplicata. Para determinação da concentração de cafeína nas amostras, foi construída uma curva padrão, que pode ser observada na Figura 2, analisando cinco soluções de concentração conhecida medindo suas respectivas absorbâncias.

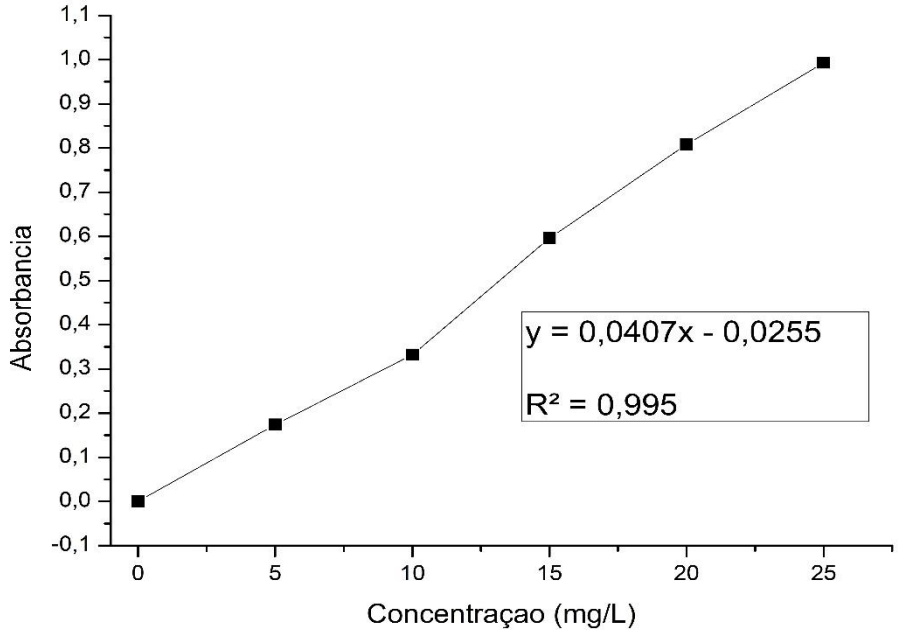


Figura 2. *Curva padrão obtida para metodologia oficial*

Fonte: Pesquisa experimental de autoria própria

Após a construção da curva padrão foram realizadas as leituras dos extratos de cafeína de cada lote das bebidas energéticas em espectrofotômetro utilizando o mesmo comprimento de onda. A Tabela 1 traz os valores de absorbância dos extratos obtidos para os 3 lotes analisados de cada uma das bebidas energéticas analisadas (Energéticos A, B e C).

Tabela 1: Valores de absorbância das leituras dos extratos das bebidas energéticas obtidos através da metodologia oficial

	Valores de absorbância obtidos nas leituras					
Energético	**Replicata 1**	**Replicata 2**	**Replicata 3**	**Proporção de diluição**	**Média**	**Desvio Padrão**
A (Lote 1608913)	0,121	0,119	0,124	1:100	0,121	0,003
A (Lote 1608917)	0,131	0,129	0,128	1:100	0,129	0,002
A (Lote 1608936)	0,124	0,121	0,127	1:100	0,124	0,003
B (Lote 20030846)	0,945	0,951	0,948	1:10	0,948	0,003
B (Lote 20030847)	0,931	0,938	0,935	1:10	0,935	0,004
B (Lote 20030851)	0,935	0,936	0,939	1:10	0,937	0,002
C (Lote 18164)	0,988	0,986	0,984	1:10	0,986	0,002
C (Lote 18166)	0,966	0,975	0,978	1:10	0,973	0,006
C (Lote 18177)	0,971	0,981	0,982	1:10	0,978	0,006

Para a determinação das concentrações de cafeína nas bebidas energéticas, foi utilizada a equação da reta da curva padrão de cafeína, que pode ser observada na Figura 2. A equação é dada por $y = 0{,}0407x - 0{,}0255$, em que y representa o valor de absorbância e x representa a concentração de cafeína em mg/L. Os valores encontrados de concentração de cafeína nas bebidas energéticas por meio da metodologia de extração oficial podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2: Valores das concentrações de cafeína nas bebidas energéticas obtidas através do método de extração oficial

	Concentração de cafeína (mg/L)				
Energético	**Replicata 1**	**Replicata 2**	**Replicata 3**	**Média**	**Desvio Padrão**
A (Lote 1608913)	297,92	293,01	305,29	298,74[b]	6,18
A (Lote 1608917)	322,49	317,57	315,12	318,40[a]	3,75

Brazilian Journal of Development

A (Lote 1608936)	305,29	297,92	312,67	305,29[b]	7,37
B (Lote 20030846)	232,81	234,28	233,55	233,55[d]	0,73
B (Lote 20030847)	229,37	231,09	230,36	230,27[d]	0,86
B (Lote 20030851)	230,36	230,60	231,34	230,77[d]	0,51
C (Lote 18164)	243,37	242,89	242,40	242,89[c]	0,49
C (Lote 18166)	237,97	240,18	240,92	239,69[c]	1,53
C (Lote 18177)	239,20	241,66	241,90	240,92[c]	1,49

Os valores de médias que contém coeficientes iguais não diferen entre si ao nível de 5% de probabilidade

Os dados expressos na Tabela 2 foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância e teste de Tukey, em que foi possível observar que o energético A foi o que obteve a maior concentração de cafeína, enquanto que o energético B foi aquele que obteve a menor concentração de cafeína. Foi possível observar, ainda, que o Lote 1608917 do energético A diferiu significativamente dos outros lotes do mesmo energético. Vale ressaltar também que os valores de teor de cafeína apresentaram diferença significativa para as três marcas de bebidas energéticas.

3.2 MÉTODO DE EXTRAÇÃO ALTERNATIVO (LÍQUIDO-LÍQUIDO)

A cafeína extraída utilizando-se a metodologia alternativa Líquido-Líquido foi quantificada em espectrofotômetro UV-VIS, a 272 nm, assim como na metodologia oficial. Para a determinação da concentração de cafeína nas bebidas energéticas foi construída uma curva padrão, sendo analisadas cinco soluções de concentração conhecida, medindo suas respectivas absorbâncias. A curva padrão pode ser observada na Figura 3.

Brazilian Journal of Development

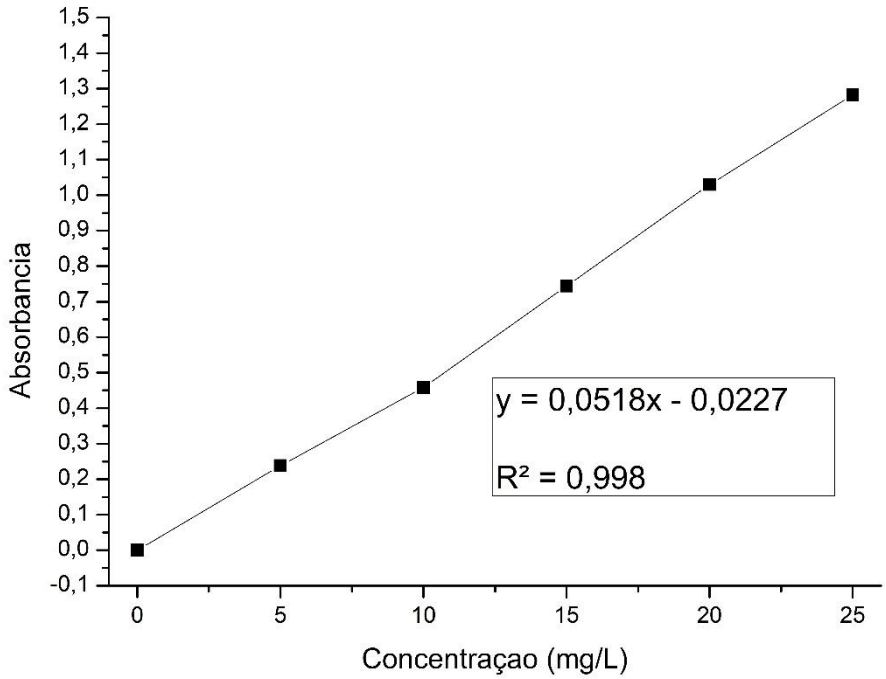


Figura 3. *Curva padrão obtida para metodologia alternativa*

Fonte: Pesquisa experimental de autoria própria

Posteriormente à construção da curva padrão, os extratos de cafeína de cada um dos lotes dos energéticos foram analisados no espectrofotômetro, com um comprimento de onda de 272 nm. As Tabelas 3 mostra os valores de absorbância dos extratos obtidos para cada um dos lotes analisados das bebidas energéticas (Energéticos A, B e C) por meio da metodologia alternativa Líquido-Líquido, em cada uma das proporções de energético:solvente. Vale ressaltar que as amostras apresentaram um valor alto de absorbância em uma primeira leitura, sendo necessária a diluição da amostra na proporção 1:100 de energético:solvente.

Tabela 3: Valores de absorbância das leituras dos extratos das bebidas energéticas obtidos por mio da metodologia alternativa

		Valores de absorbância obtidos nas leituras				
Energético	**Proporção Energético:solvente (mL:mL)**	**Replicata 1**	**Replicata 2**	**Replicata 3**	**Média**	**Desvio padrão**

Brazilian Journal of Development

A (Lote 1608913)	3:3	0,167	0,151	0,159	0,159	0,008
A (Lote 1608913)	4:4	0,156	0,144	0,145	0,148	0,007
A (Lote 1608913)	5:5	0,145	0,138	0,142	0,142	0,004
A (Lote 1608917)	3:3	0,136	0,138	0,142	0,139	0,003
A (Lote 1608917)	4:4	0,145	0,142	0,141	0,143	0,002
A (Lote 1608917)	5:5	0,144	0,146	0,149	0,146	0,003
A (Lote 1608936)	3:3	0,151	0,159	0,161	0,157	0,005
A (Lote 1608936)	4:4	0,162	0,163	0,167	0,164	0,003
A (Lote 1608936)	5:5	0,158	0,149	0,152	0,153	0,005
B (Lote 20030846)	3:3	0,124	0,129	0,122	0,125	0,004
B (Lote 20030846)	4:4	0,126	0,121	0,119	0,122	0,004
B (Lote 20030846)	5:5	0,123	0,125	0,128	0,125	0,003
B (Lote 20030847)	3:3	0,129	0,126	0,121	0,125	0,004
B (Lote 20030847)	4:4	0,131	0,127	0,119	0,126	0,006
B (Lote 20030847)	5:5	0,121	0,119	0,116	0,119	0,003
B (Lote 20030851)	3:3	0,123	0,128	0,119	0,123	0,004
B (Lote 20030851)	4:4	0,118	0,121	0,124	0,121	0,003
B (Lote 20030851)	5:5	0,123	0,124	0,121	0,123	0,002
C (Lote 18164)	3:3	0,121	0,125	0,129	0,125	0,004
C (Lote 18164)	4:4	0,122	0,124	0,130	0,125	0,004
C (Lote 18164)	5:5	0,113	0,119	0,112	0,115	0,004
C (Lote 18166)	3:3	0,119	0,118	0,122	0,120	0,002
C (Lote 18166)	4:4	0,122	0,128	0,127	0,126	0,003
C (Lote 18166)	5:5	0,129	0,121	0,137	0,129	0,008
C (Lote 18177)	3:3	0,127	0,120	0,122	0,123	0,004

C (Lote 18177)	4:4	0,121	0,120	0,126	0,122	0,003
C (Lote 18177)	5:5	0,116	0,126	0,128	0,123	0,006

Fonte: Pesquisa experimental de autoria própria

Para determinação da concentração de cafeína nas bebidas energéticas, utilizou-se a equação da reta obtidas através da curva padrão de cafeína (Figura 3). A equação foi dada por y = 0,0518x - 0,0227, sendo y o valor de absorbância e x o valor de concentração de cafeína em mg/L. A Tabela 4 apresenta os valores de concentração encontrados.

Tabela 4: Valores das concentrações de cafeína nas bebidas energéticas obtidas através do método de extração alternativo

		Valores de concentração (mg/L)				
Energético	**Proporção Energético:solvente (mL:mL)**	**Replicata 1**	**Replicata 2**	**Replicata 3**	**Média**	**Desvio padrão**
A (Lote 1608913)	3:3	322,83	291,94	307,39	307,39^{a}	15,44
A (Lote 1608913)	4:4	301,60	278,43	280,36	286,80^{ab}	12,85
A (Lote 1608913)	5:5	280,36	266,84	274,57	273,93^{b}	6,78
A (Lote 1608917)	3:3	262,99	266,85	274,57	268,13^{b}	5,90
A (Lote 1608917)	4:4	280,36	274,57	272,64	275,86^{ab}	4,02
A (Lote 1608917)	5:5	278,43	282,29	288,08	282,94^{a}	4,86
A (Lote 1608936)	3:3	291,94	307,39	311,25	302,53^{ab}	10,22
A (Lote 1608936)	4:4	313,18	315,11	322,83	317,04^{a}	5,11
A (Lote 1608936)	5:5	305,46	288,08	293,87	295,80^{b}	8,85
B (Lote 20030846)	3:3	239,92	249,47	235,96	241,75^{a}	6,96

B (Lote 20030846)	4:4	243,68	234,03	230,17	235,96[a]	6,96
B (Lote 20030846)	5:5	237,89	241,75	247,49	242,39[a]	4,86
B (Lote 20030847)	3:3	249,47	243,68	234,03	242,39[a]	7,80
B (Lote 20030847)	4:4	253,33	245,61	230,17	243,04[a]	11,80
B (Lote 20030847)	5:5	234,03	230,17	224,38	229,52[a]	4,86
B (Lote 20030851)	3:3	237,89	247,54	230,17	238,53[a]	8,71
B (Lote 20030851)	4:4	228,24	234,03	239,82	234,03[a]	5,80
B (Lote 20030851)	5:5	237,89	239,82	234,03	237,25[a]	2,95
C (Lote 18164)	3:3	234,03	241,75	49,47,80	241,75[a]	7,72
C (Lote 18164)	4:4	235,96	239,82	251,40	424,39[a]	8,04
C (Lote 18164)	5:5	218,58	230,17	216,65	221,80[a]	7,31
C (Lote 18166)	3:3	230,17	228,24	235,96	231,45[a]	4,02
C (Lote 18166)	4:4	235,96	247,54	245,61	243,04[a]	6,21
C (Lote 18166)	5:5	249,47	234,03	264,92	249,47[a]	15,44
C (Lote 18177)	3:3	245,61	232,10	235,96	237,89[a]	6,96
C (Lote 18177)	4:4	234,03	232,10	243,68	236,60[a]	6,20
C (Lote 18177)	5:5	224,38	243,68	247,54	238,53[a]	12,41

Os valores de médias que contém coeficientes iguais não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade considerando análise realizada apenas dentro de cada lote

Fonte: Pesquisa experimental de autoria própria

Segundo análise de variância e teste de Tukey, apenas para o energético A os volumes de energético e solvente utilizados apresentaram diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade. Para os energéticos B e C, não houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade,

independente dos respectivos volumes de energético e solvente utilizados para as extrações. Assim, é possível dizer que os valores de concentração encontrados não apresentam diferença quando se usa 3 mL de energético ou 5 mL de energético. Portanto, como a metodologia líquido-líquido visa o menor gasto de solventes, é indiferente o uso de 5 mililitros ou 3 mililitros de energético e solvente utilizados para a extração, pois segundo análise estatística os resultados não diferem.

Os dados foram agrupados e uma média foi feita para todas as proporções energético:solvente de um mesmo lote. Os dados seguem na Tabela 5:

Tabela 5: Média das concentrações de cafeína nas bebidas energéticas obtidas através do método de extração alternativo

Energético	Média de concentração (mg/L)	Desvio Padrão
A (Lote 1608913)	289,37[b]	18,06
A (Lote 1608917)	275,64[b]	7,73
A (Lote 1608936)	305,46[a]	11,78
B (Lote 20030846)	240,03[c]	6,29
B (Lote 20030847)	238,32[c]	9,97
B (Lote 20030851)	236,60[c]	5,79
C (Lote 18164)	235,32[c]	12,13
C (Lote 18166)	241,32[c]	11,65
C (Lote 18177)	237,68[c]	7,81

Os valores de médias que contém coeficientes iguais não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade

Fonte: Pesquisa experimental de autoria própria

Analisando os dados da Tabela 5, que mostra os valores das médias das concentrações de cafeína para as bebidas energéticas, foi possível avaliar que, por meio de análise de variância e teste de Tukey, os valores diferiram significativamente entre os energéticos, sendo possível perceber que

o energético A apresentou o maior teor de cafeína, enquanto que os energéticos B e C, os menores. Através do mesmo teste, foi possível avaliar que os energéticos B e C não diferiram entre si ao nível de 5% de probabilidade, mas diferiram com relação ao energético A.

4 COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS OFICIAL E ALTERNATIVO

A partir do objetivo central do presente estudo, que foi a comparação entre uma metodologia oficial de extração de cafeína e uma metodologia alternativa, avaliando até que ponto a metodologia alternativa poderia substituir o método oficial de extração, os resultados de ambos os métodos de foram comparados e seguem na Tabela 6.

Tabela 6: Comparação entre as concentrações de cafeína extraída pelos dois métodos de extração em estudo e comparação com o rótulo do produto

Energético	Concentração de cafeína extraída pelo método oficial (mg/L)	Concentração de cafeína extraída pelo método alternativo (mg/L)	Teor de cafeína no rótulo do produto
A (Lote 1608913)	$298,74^{Ab}$	$289,37^{Ab}$	320 mg/L
A (Lote 1608917)	$318,40^{Aa}$	$275,64^{Bb}$	320 mg/L
A (Lote 1608936)	$305,29^{Ab}$	$305,46^{Aa}$	320 mg/L
B (Lote 20030846)	$233,55^{Bd}$	$240,03^{Ac}$	320 mg/L
B (Lote 20030847)	$230,27^{Ad}$	$238,32^{Ac}$	320 mg/L
B (Lote 20030851)	$230,77^{Ad}$	$236,60^{Ac}$	320 mg/L
C (Lote 18164)	$242,89^{Bc}$	$235,32^{Ac}$	320 mg/L
C (Lote 18166)	$239,69^{Bc}$	$241,32^{Bc}$	320 mg/L
C (Lote 18177)	$240,92^{Bc}$	$237,68^{Bc}$	320 mg/L

Brazilian Journal of Development

As letras minúsculas iguais nos coeficientes indicam equivalência nas colunas e letras maiúsculas iguais nos coeficientes indicam equivalência nas linhas, ou seja, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa experimental de autoria própria

O teste de Tukey aplicado para os resultados da Tabela 6 indica que há diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade para o Lote 1608917 do energético A, Lote 20030846 do energético B e Lote 18164 do energético C, sendo que para os outros dois lotes de cada bebida energética não houve diferença significativa. Desse modo, é possível afirmar que, como apenas um lote de cada energético apresentou diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade com relação às metodologias de extração oficial e alternativa, ambas poderiam ser utilizadas para extração e quantificação de cafeína.

Utilizando a metodologia de extração alternativa há um menor gasto de solvente, considerando que na metodologia de extração oficial são gastos no mínimo 100 mililitros de clorofórmio por extração, enquanto que na metodologia alternativa, o gasto de solvente gira em torno de 5 a 20 mililitros por extração, considerando as diluições anteriormente às leituras. Dessa maneira, utilizando a metodologia alternativa o gasto de solventes tóxicos ao meio ambiente diminui em no mínimo 80%, algo que deve ser levado em consideração.

Com relação ao teor de cafeína especificado no rótulo do produto, nenhum dos energéticos excedeu o valor, sendo considerados também de acordo com as especificidades estabelecidas pela Portaria n° 868/1998 da ANVISA, que determina como limite máximo de cafeína em bebidas prontas para consumo o valor de 350 mg/L. Desse modo, com relação ao teor de cafeína, todos os lotes das bebidas energéticas foram aprovados.

5 CONCLUSÃO

Por meio do presente estudo pode-se concluir que os resultados obtidos e apresentados com relação à concentração de cafeína nas bebidas energéticas analisadas apontaram uma aproximação relativamente grande entre as metodologias de extração oficial e alternativa, mesmo com uma diferença significativa para um lote de cada bebida analisada. Assim, o método de extração alternativo se mostra como uma metodologia propositiva para a extração de cafeína em bebidas energéticas, com um menor gasto de solventes e mais simples em termos de execução, em detrimento da metodologia oficial. Ao serem analisados os valores de teor de cafeína nas amostras, todas apresentaram-se de acordo com o rótulo do produto e com a legislação, que limita a adição de cafeína como ingrediente a 350 mg/L. Portanto, a metodologia alternativa líquido-líquido se mostrou capaz de apontar

resultados satisfatórios para extração e quantificação de cafeína, uma vez que isso foi possível no presente estudo.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (method 962.13). Arlington: A.O.A.C., 1995. chapter 29. p. 3.

Brasil. Resolução CNNPA nº 12, de 1978. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf> Acesso em 12 de outubro de 2018.

BRASIL. Regulamento Técnico para composto líquido pronto para consumo. Portaria nº 868/1998.

BORTOLINI, K.; SICKA, P.; FOPPA, T. Determinação do teor da cafeína em bebidas estimulantes. Revista Saúde, Universidade do Contestado – UnC, 2010.

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: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n1/20.pdf> Acesso em 12 de outubro de 2018.

Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica. 10ª ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill; 2005.

HOLLER, F. J.; SKOOG, Douglas A.; CROUCH, Stanley R. Princípios de Análise Instrumental. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

Lara Teixeira, Alexsandro, Rodrigues Prado, Paulo Eduardo, das Graças Dias, Kaio Olimpio, Ribeiro Malta, Marcelo, Avelar Gonçalves, Flávia Maria. Avaliação do teor de cafeína em folhas e grãos de acessos de café arábica. Revista Ciência Agronômica [en linea] 2012, 43 (Sin mes). Disponível em :<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195320077016> ISSN 0045-6888. Acesso em 12 de outubro de 2018.

Ramón-Salvador, Diana M., Cámara-Flores, José M., Cabral-León, Francisco J., Juárez-Rojop, Isela E., Díaz-Zagoya, Juan C., Consumo de bebidas energéticas en una población de estudiantes universitarios del estado de Tabasco, México. Salud en Tabasco [en linea] 2013, 19 (Enero-Abril). Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48727474003> Acesso em 12 de outubro de 2018

VINADÉ, Maria E. C.; VINADÉ, Elsa R. C. Métodos Espectroscópicos de Análise Quantitativa. Santa Maria: UFSM, 2005.