

# ROTEIRO DA PRÁTICA DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA "DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE CAFEÍNA EM ALIMENTOS"

Tomado de; CORDEIRO, P.J.M. Práticas de cromatografia líquida. São Paulo: Scortecci, 2009.108 p.

#### **OBJETIVO:**

Adquirir destreza na execução de rotinas analíticas que envolvem a utilização de métodos de cromatografia liquida de alta eficiência (HPLC).

## INTRODUÇÃO

A cafeína é um alcaloide do grupo das xantinas, apresentando-se na forma de um pó branco, caracterizando-se por ser extremamente solúvel em água quente, não ter cheiro e apresentar sabor amargo. É encontrada em uma grande quantidade de alimentos, tais como chá mate, café, cacau, cola e quaraná, sendo geralmente consumida como estimulante.

A cafeína é também constituinte de diversos medicamentos do tipo analgésico, contra gripe e inibidores de apetite, fazendo com que seja um dos alcaloides com atividade biológica mais ingeridos no mundo.

Das principais xantinas (que incluem a teofilina e a teobromina), a cafeína é a que mais atua sobre o sistema nervoso central. Além disso, aumenta a produção do suco gástrico, o que pode ocasionar a ocorrência de úlceras. O consumo excessivo pode provocar irritabilidade, ansiedade, agitação, tremores, insônia e até mesmo um quadro de pânico. Doses altas de cafeína podem até ser letais.

A cafeína é uma droga que causa dependência física e psicológica, similar às anfetaminas e à cocaína. Seus efeitos são mais fracos que essas drogas, mas ela age nos mesmos receptores do sistema nervoso central.



#### PARTE EXPERIMENTAL

## Condições cromatográficas

As análises serão realizadas no modo isocrático, usando como fase móvel uma mistura 30:70 (v/v) de metanol (grau HPLC–TEDIA BRAZIL): água, (vazão: 1 mL min<sup>-1</sup>) e volume de injeção de 20 µL (loop). Será utilizado um detector de arranjo de diodos com monitoramento em 272 nm e uma coluna Zorbax C18 (150 x 4,6 mm e 5 µm de espessura do filme).

### Construção da Curva Analítica

A determinação quantitativa da cafeína será realizada pelo método de padrão externo. Para isso, deve ser construída uma curva analítica com concentrações dentro de faixa linear de 1-50 mg mL<sup>-1</sup>, utilizando água como solvente.

#### Análise de cafeína no café

Adicionar 3 colheres de sopa de pó de café em 600 mL de água fervente. Diluir o extrato 25 vezes para que a concentração de cafeína fique dentro da faixa linear da curva analítica.

#### Análise de cafeína no refrigerante de cola

Desgaseificar em ultrassom uma amostra de refrigerante de cola. Diluir a amostra 10 vezes para que a concentração de cafeína fique dentro da faixa linear da curva analítica.

## **ANÁLISE DE RESULTADOS**

- **a.** A partir dos cromatogramas obtidos para os diferentes pontos da curva analítica construir uma tabela listando as concentrações e a área do pico cromatográfico observado em cada caso. Realizar um gráfico de concentração como função das áreas dos picos cromatográficos e obter a respetiva equação para a reta.
- **b.** A partir da curva analítica anteriormente construída e da área dos picos cromatográficos, correspondente à cafeína em cada uma das amostras, calcular a concentração da cafeína em cada amostra. Levar em conta o volume de injeção e as diluições realizadas na realização dos cálculos.