



## Extração, identificação e quantificação de cafeína em chá composto (*Camellia sinensis* e *Hibiscus sabdariffa* L.) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Sandra Liliana Albornoz Marín<sup>1</sup> Daiane Pereira<sup>2</sup> Rafaela Carminatti<sup>3</sup>  
Tatiane Luiza Cadorin Oldoni<sup>4</sup> Marcio Barreto Rodrigues<sup>5</sup>

07 abr. 2015

Resumo – A espécie *Camellia sinensis* apresenta em sua composição química diferentes classes de compostos, dentre as quais se destacam os compostos fenólicos como as catequinas, cafeína e aminoácidos, os quais têm sido relacionados com atividades biológicas no organismo. Atualmente existem comercialmente disponíveis misturas de plantas para produção de chás compostos, o que proporciona variações no aroma e sabor dos chás produzidos a partir destas combinações. Dentro deste contexto, o objetivo deste estudo foi identificar e quantificar o teor de cafeína presente no extrato de chá composto por folhas e talos de chá-preto (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze e flores de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.). A amostra de chá foi adquirida no comércio local da cidade de Pato Branco-PR. A extração da cafeína foi realizada utilizando água e para a purificação do extrato foram avaliadas e comparadas duas técnicas: Extração Líquido-Líquido (ELL) e Extração em Fase Sólida (SPE). Para o trabalho de identificação e quantificação foi utilizada a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD). A quantificação foi realizada utilizando padrão autêntico de cafeína preparado em concentrações que variaram de 10 a 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . No procedimento analítico foram calculados os limites de detecção (LD) (0,33  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), quantificação (LQ) (1,1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) e linearidade (0,9941). Os teores de cafeína obtidos para os métodos ELL e SPE foram respectivamente de 124,08 mg/g e 1,11 mg/g. Desta forma, foi possível concluir que a técnica de extração mais adequada foi a ELL e que a CLAE-DAD apresenta elevada sensibilidade.

Palavras-chave: limite de detecção (LD). limite de quantificação (LQ). chá. cafeína. CLAE.

### 1. INTRODUÇÃO

Atualmente existe um aumento no consumo de produtos naturais, devido a sua importância para a

saúde humana. O chá é uma bebida muito popular com propriedades sensoriais tais como, sabor e aroma agradáveis. É uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo, principalmente na China e na Índia,

1 [slam1503@hotmail.com](mailto:slam1503@hotmail.com), UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.

2 UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.

3 UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.

4 UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.

5 UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.



sendo constituído de substâncias químicas que podem interferir diretamente no nosso corpo. Além disso, pode ser utilizado como princípio ativo em medicamentos, no combate e prevenção de certas doenças, entre elas a gripe e doenças crônicas como câncer e cardiopatias, benefícios tais como efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e anti-obesidade (PAGANINI-COSTA; CARVALHO DA-SILVA, 2011; WEI et al., 2012).

A “*Camellia sinensis*” é uma espécie vegetal que pertence a família Theaceae. Os tipos de chás da espécie de “*Camellia sinensis*” diferenciam-se pelo seu processamento. Após a coleta das folhas de *C. sinensis* se oxidam rapidamente, a oxidação pode ser interrompida em algum estado predeterminado, com ajuda de remoção da água das folhas via aquecimento, o que pode produzir diferentes tipos de chás (SILVA et al., 2010; KIM et al., 2011). Os três principais tipos de chás são o chá-verde não fermentado, chá oolong semi-fermentado e chá-preto totalmente fermentado (NOVAK et al., 2010).

Para a obtenção do chá-preto as folhas e caule da “*Camellia sinensis*” são totalmente fermentados. As principais etapas para a sua preparação consistem na desidratação das folhas e caules frescos, mistura das folhas e caules já secos, fermentação (o sabor e a coloração específicos do chá-preto são acentuados nessa etapa) e secagem por meio de evaporação de toda a água presente nas folhas e caules. O chá-preto quando comparado aos demais chás provenientes da planta “*Camellia sinensis*” possui sabor e odor mais fortes e acentuados, o que ocorre devido ao processo de fermentação utilizado que favorece o aparecimento de compostos voláteis (derivados cetônicos, resultantes da degradação de carotenos, hexenal, formado pela oxidação de ácidos graxos insaturados, e heterocíclicos diversos, produtos da oxidação e rearranjo estrutural de monoterpenos) (SILVA et al., 2010).

A produção de chá-preto corresponde a aproximadamente 72% da produção mundial de chás. Apesar da maior parte dos antioxidantes serem oxidados durante o processo de fermentação, o chá-

preto possui elevada quantidade de compostos bioativos, como os flavonóides. Estes compostos bioativos são responsáveis por ações antiateroscleróticas, hipoglicemiantes e anticancerígenas (SHARANGI, 2009; SILVA et al., 2010).

O hisbisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) é uma das plantas nutraceuticas mais procuradas e vendidas em todo o mundo pois, possui propriedades diuréticas, antioxidantes, anti-hipertensivas, anti-parasitárias e de normalização intestinal (ODORIZZI et al., 2014). A principal parte da planta de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L) utilizada na obtenção do chá, são os cálices e as vagens das flores. Os cálices de cor vermelho escarlata possuem um aroma característico e um gosto amargo (PATEL, 2014). A planta requer para seu crescimento de 4 até 8 meses e uma temperatura de mínimo 20 °C a qualidade da planta de hibisco depende principalmente do cúmulo de sementes, condições de cultivo locais, tempo da colheita, manuseio pós-colheita e, a etapa de secagem. Os cálices frescos ou secos são utilizados para a preparação de chás e em alguns lugares são utilizados como substitutos do café (DA-COSTA-ROCHA et al., 2014)

A Infusão de chá não só dá sabor e aroma específicos, também traz muitos compostos essenciais para a saúde humana, tais como, polifenóis, cafeína, aminoácidos, vitaminas, carboidratos e oligoelementos (EL-SHAHAWI et al., 2012). A cafeína é um alcalóide da família das metilxantinas identificado como (1,3,7-trimetilxantina), sendo um dos principais compostos químicos encontrado em folhas de chás. Muitas pesquisas têm adotado como objeto de estudo os efeitos da cafeína sobre o comportamento humano, esses efeitos podem ser tanto positivos como o aumento da capacidade de alerta e redução da fadiga, com melhora no desempenho de atividades que exijam maior atenção, quanto negativos como diminuição do controle motor e baixa qualidade do sono, além de causar irritabilidade em indivíduos com quadro de ansiedade.

Existem diversas técnicas analíticas que podem ser



utilizadas para identificar e quantificar a cafeína em diferentes matrizes, dentre as quais destaca-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) que atualmente é aplicada para determinação de cafeína em alimentos como café, chocolate e chá. A grande vantagem desta técnica é a sensibilidade elevada quando comparada às demais técnicas instrumentais (DE MARIA; MOREIRA, 2007).

Dentro deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi extrair, por extração líquida-líquida (ELL) e extração em fase sólida (SPE), identificar e quantificar o teor de cafeína em um lote de chá composto (*Camellia sinensis* e *Hibiscus sabdariffa* L) comercializado em supermercados locais da cidade de Pato Branco-PR, utilizando a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com o emprego do sistema de detecção de arranjo de diodos DAD.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Materiais

O chá composto utilizado neste estudo foi produzido por indústria localizada na cidade de Xanxerê-SC e adquirido no comércio local da cidade de Pato Branco-PR. O chá analisado era composto por folhas e talos de chá-preto (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) e flores de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.). Todas as extrações foram realizadas em triplicata.

### 2.2. Extração de cafeína do Chá Composto

Foram pesados três gramas (3 g) de chá e acrescentados um grama (1 g)  $\text{CaCO}_3$ , na sequência foram adicionados 50 mL de água destilada e a mistura foi aquecida à ebulição e mantida por 20 minutos sempre com agitação constante. Decorrido o tempo necessário para a extração, a mistura foi resfriada a temperatura ambiente e filtrada com auxílio de pressão reduzida. Ao filtrado foi adicionado 1 g de NaCl, após a solução foi transferida para um funil de separação e seguiu-se com dois procedimentos de purificação distintos que seguem.

### Extração Líquido-Líquido (ELL)

A solução obtida conforme item 2.2 foi transferida para um funil de separação e extraída com duas porções de 10 ml de diclorometano. Os volumes obtidos foram combinados e à solução resultante foi adicionado aproximadamente 1 g de  $\text{MgSO}_4$  anidro, para eliminar qualquer resíduo de água na solução. Finalmente se filtrou a solução e todo o solvente foi eliminado por evaporação. O concentrado foi solubilizado com uma alíquota de 2 ml da fase móvel ( $\text{MeOH:H}_2\text{O} / 30:70$  v/v). Previamente a injeção foi realizada uma diluição de 20 vezes do extrato e este filtrado, com auxílio de unidade filtrante PTFE  $0,45\mu\text{m}$  de poro, acondicionado diretamente para vial.

### Extração em fase sólida (SPE)

Uma alíquota de 1 mL do extrato foi aplicada ao cartucho SPE C18, pré- condicionado com metanol (2 mL) e água destilada (2 mL). O cartucho foi lavado com água ( $2 \times 2$  mL), e em seguida o extrato foi eluído com metanol ( $2 \times 500$   $\mu\text{L}$ ). Na sequência as amostras foram filtradas, unidade filtrante PTFE  $0,45\mu\text{m}$  de poro, e acondicionadas em vials.

### 2.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Para a identificação e quantificação da cafeína foi utilizado equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência CLAE (Varian 920- LC) equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) operando em 272 nm. A coluna analítica utilizada era de fase reversa C-18 (250 mm x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) Varian, mantida a 30 °C. A fase móvel utilizada foi uma mistura de metanol (solvente B) e água (solvente A) em uma proporção de 30:70 v/v operando em modo isocrático em fluxo de  $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  por um tempo total de 20 minutos, o volume de injeção foi de 10  $\mu\text{L}$  e os espectros foram obtidos e processados pelo Software Galaxie.

Para a quantificação foi preparada uma solução padrão estoque de cafeína na concentração de  $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  e na sequência, realizadas as diluições necessárias para preparo da curva de calibração com seis concentrações que variaram de 10 a  $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ .



A partir das concentrações e áreas dos picos cromatográficos foi plotada uma curva de calibração obtida por regressão linear.

$$y=ax+b \quad (1)$$

Na equação de reta (Eq. 1)  $y$  corresponde à área do pico cromatográfico,  $a$  é o coeficiente angular  $x$  é a concentração e  $b$  o coeficiente linear, foi possível quantificar o teor de cafeína nas amostras.

#### **2.4. Validação da metodologia analítica CLAE-DAD**

Para garantir a confiabilidade do método analítico utilizado na identificação e quantificação da cafeína, alguns parâmetros de validação foram testados.

##### **Linearidade**

A linearidade é a resposta obtida em função da concentração do analito. Uma técnica conveniente é preparar uma solução estoque da substância a ser analisada e realizar diluições em série para se obter as concentrações necessárias para análise. Os dados são então processados usando uma regressão de mínimos quadrados linear. Uma linearidade com coeficiente de correlação acima de 0,999 é aceitável para a maioria dos métodos (VAZ et al., 2014).

##### **Precisão e Sensibilidade**

Precisão é a concordância dos resultados analíticos para uma mesma amostra; são aceitos valores para o coeficiente de variabilidade (CV) inferiores a 15%.

$$cv=\frac{s}{X} * 100 \quad (2)$$

Onde:

$s$  é o desvio padrão das medidas

$X$  Média das medidas

##### **Seletividade**

Seletividade é a capacidade do método em determinar

o analito de maneira inequívoca na presença de outras substâncias susceptíveis de interferirem na determinação. No presente estudo a seletividade foi avaliada pelo tempo de retenção da cafeína identificada nos cromatogramas.

Limites de detecção (LOD) e de Quantificação (LOQ)

Duas importantes características de um método são o limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ). O LOD é definido como sendo a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de quantificação (LOQ) é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (VAZ et al., 2014).

$$LOD=3*N \quad (3)$$

$$LOQ=10*N \quad (4)$$

Onde:

$N$  é o ruído do sistema

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Validação da metodologia analítica CLAE-DAD**

No presente trabalho o método foi estudado num intervalo de concentração de 10 a 200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  no qual a curva padrão foi injetada em triplicata por três diferentes grupos de analistas (Tabela 1). Assim, para validação do método foi realizada a média das áreas de cada um dos pontos de concentração e obteve-se um coeficiente de correlação de 0,9941.

Equação para a curva padrão de cafeína:  $y= 0,3532x + 0,5704$ ; Coeficiente de determinação  $R^2 = 0,9941$ .

Para inferir se os resultados têm ou não precisão utiliza-se o coeficiente de variação (CV), coeficientes com valores menores do que 10% indicam precisão elevada, valores de CV entre 10% e 20% apresentam precisão intermediária. Neste estudo foi possível identificar



diferenças nos valores do CV a partir dos diferentes pontos das curvas de calibração analisados (Tabela 1), sendo os valores obtidos para as concentrações 20 e 40  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de 14,05 e 20% respectivamente.

**Tabela 01** – Repetibilidade do método CLAE-DAD de determinação de cafeína em chá composto (*Camellia sinensis* e *Flores Hibiscus sabdariffa* L).

Concentração ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Áreas médias (mAU)	Desvio Padrão (mAU)	CV %
10	5,7	0,52	8,66
20	7,7	1,12	14,05
40	11,6	2,60	20,00
60	21,1	1,87	8,63
80	29,1	2,27	7,70
100	38,2	0,52	1,37
200	70,7	0,68	0,96

Também foi possível concluir, comparando as duas técnicas de purificação, que a ELL apresentou elevada repetibilidade, enquanto a SPE não conseguiu reproduzir resultados satisfatórios.

**Tabela 02** – Composição de cafeína na amostra de chá composto (*Camellia sinensis* e *Flores Hibiscus sabdariffa* L de Hibisco).

Extração Utilizada	Cafeína (mg/g)
ELL	124,08 $\pm$ 1,66
SPE	1,13 $\pm$ 0,46

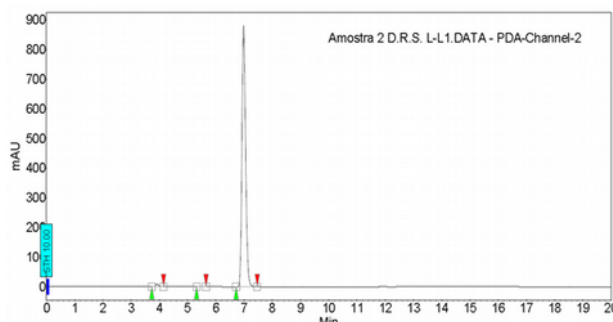
A sensibilidade de um método indica sua capacidade em discriminar, com fidelidade, concentrações próximas de um analito. A sensibilidade pode ser detectada através da inclinação do gráfico de calibração no caso de uma reta, quanto maior o ângulo de inclinação da reta maior será a sensibilidade do método. Nesse estudo obteve-se um coeficiente angular de 0,3532.

Os valores de LOD e LOQ obtidos neste estudo foram 0,33  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e 1,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivamente. Estes resultados revelam detectabilidade elevada do método na determinação de metilxantinas nas amostras em estudo, com a confiabilidade desejada.

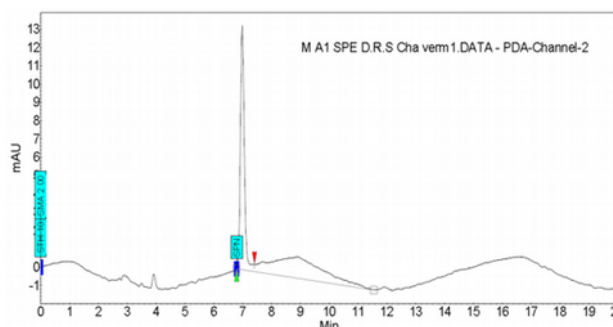
### 3.2. Identificação de Cafeína em Chá composto (*Camellia sinensis* e *Flores Hibiscus sabdariffa* L).

Foram registrados os cromatogramas obtidos a partir dos dois diferentes métodos de purificação (ELL e

SPE) (Figuras 1 e 2). Os cromatogramas obtidos apresentaram um perfil químico sem muitos picos, o que indica que o processo de extração e purificação foi eficiente. O tempo de retenção médio obtido foi de 6,97 minutos, semelhante ao obtido para o padrão cafeína.



**Figura 01** – Cromatograma CLAE Obtido para o extrato de chá composto a partir da Extração Líquido-Líquido (ELL).



**Figura 02** – Cromatograma CLAE Obtido para o extrato de chá composto a partir da Extração em fase sólida (SPE).

O cromatograma referente à purificação por SPE apresenta uma oscilação da linha base mais intensa que a ELL, isso pode ter ocorrido devido a baixa concentração de cafeína neste extrato, fazendo com que a intensidade do pico fosse baixa, e picos referentes a interferentes aparecessem no cromatograma, porém o pico referente a cafeína apresenta boa resolução e seletividade (Figura 2).

### 3.3. Quantificação da cafeína em amostra de chá composto (*Camellia sinensis* e *Flores Hibiscus sabdariffa* L)

Os valores obtidos para cafeína nas amostras analisadas foram de 124,08 mg/g (ELL) e 1,11 mg/g (SPE). São escassos os estudos que avaliaram teor de cafeína em amostras de chá composto (chá-preto



*Camellia sinensis* e Flores de Hibisco *Hibiscus sabdariffa* L) por CLAE.

Bae et al. (2015) desenvolveram e otimizaram o processo de extração utilizando o método de CLAE-UV para a identificação e quantificação em chá-preto de 15 compostos fenólicos, entre eles a cafeína, onde encontram valor (20,09 mg/g).

Rahim et al. (2014) ao quantificarem o teor de cafeína em diferentes tipos de chás verde, oolong, preto, produzidos no oriente, encontraram maiores teores de cafeína nas amostras de chá-preto do que as amostras de chá-verde e oolong. Valores para as três amostras de chá-preto foram de 69,2 mg/g, 61,1 mg/g e 63,3 mg/g.

Ramalho et al. (2013) avaliaram teores de cafeína utilizando várias marcas de chá-preto (*Camellia sinensis*) disponíveis no mercado, entre eles dois chás brasileiros, dois da Índia e um da Grã-Bretanha, onde os chás brasileiros apresentaram maiores valores de cafeína (67 mg/g e 40 mg/g).

Segundo Ramalho et al. (2013) a cafeína é benéfica a saúde em uma concentração de até 200 mg/dia.

Poucos estudos avaliaram o teor de cafeína em chás por extração utilizando SPE. No entanto, Rostagno et al. (2011) avaliaram o teor de cafeína de chá-preto e extração por SPE obtiveram valor de 0,000089 mg/g. No presente estudo foi encontrado valor superior ao relatado por Rostagno et al. (2011) talvez devido à composição do chá utilizado na pesquisa (Tabela 2).

Comparando-se os dois métodos de extração pode-se observar que se obteve melhor resultado pela extração

ELL do que pela extração em SPE. Segundo Queiroz; Collins (2001) a eficiência da extração ELL depende da afinidade do soluto pelo solvente de extração, da razão das fases e do número de extrações. Os autores também afirmam que se comparando a extração ELL e a SPE obtém-se um extrato mais puro na ELL do que na SPE. A grande vantagem da extração em SPE é que o método é mais fácil do que comparado com a ELL.

As diferenças encontradas nos teores de cafeína podem estar relacionadas ao fato de que os níveis dessa substância podem variar de acordo com a variedade e origem da planta, local de cultivo, solo e condições climáticas, práticas de colheita e processamento por diferentes fabricantes (RAMALHO et al., 2013; RAHIM et al., 2014; BAE et al. 2015).

#### 4. CONCLUSÃO

O método utilizado para a determinação de cafeína em chá composto de folhas e talos de chá-preto (*Camellia sinensis* L.) e flores de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) apresentou elevada seletividade e resolução, baixos limites de detecção e quantificação, boa precisão e elevada sensibilidade. Foram observadas diferenças significativas nos teores de cafeína quando utilizados os métodos de extração ELL e SPE, tendo a técnica ELL sido considerada a mais eficiente.

#### Agradecimentos

CNPq, CAPES, PPGTP, UTFPR e central de análises.



## Extraction, identification and quantification of caffeine in compound tea (*Camellia sinensis* and *Hibiscus sabdariffa* L.) by high performance liquid chromatography (HPLC)

Abstract – *Camellia sinensis* specie have in it chemical composition different kind of compound including polyphenols, catechins, caffeine and amino acids which have been linked with biological activity in human organism. Currently exist commercially plant mixtures for tea production. This grant a variation in smell and taste on teas produced with those kinds of combinations. Therefore, the goal of present study was to identify and quantify caffeine in the extract composed by leaves and stems of black tea (*Camellia sinensis* L.) and hibisco flowers (*Hibiscus sabdariffa* L.). Tea sample was acquired in local trade in Pato Branco-PR city. Caffeine extraction was performed by using water. To purify the extract were evaluated and compared two techniques: liquid-liquid extraction (LLE) and solid phase extraction (SPE), and for identification and quantification study was used high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD) executed in 272 nm. In quantification work was used an authentic caffeine standard prepared in various concentrations: 10 a 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . In analytical procedure were calculated limit of detection (LOD) (0,33  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) and limit of quantification (LOQ) (1,1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), and linearity (0,9941). The caffeine content obtained by LLE and SPE were 124,08 mg/g and 1,11 mg/g respectively, and then was possible to conclude that the best extraction technique was LLE and HPLC-DAD presents higher sensibility.

Keywords: limits of detection (LOD). limits of quantification (LOQ). tea. caffeine. HPLC.

### REFERÊNCIAS

- BAE, I. K.; HAM, H. M.; JEONG, M. H.; KIM, D. H.; KIM, H. J. Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using RP-HPLC/UV detection: Method development and optimization of extraction process. **Food Chemistry**, v. 172, p. 469–475, 2015.
- DA-COSTA-ROCHA, I.; BONNLAENDER, B.; SIEVERS, H.; PISCHEL, I.; HEINRICH, M. *Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review. **Food chemistry**, v. 165C, p. 424–443, 2014.
- EL-SHAHAWI, M.; HAMZA, A.; BAHAFFI, S. O.; AL-SIBAAI, A. A.; ABDULJABBAR, T. N. Analysis of some selected catechins and caffeine in green tea by high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 2268–2275, 2012.
- KIM, Y.; GOODNER, K. L.; PARK, J.-D.; CHOI, J.; TALCOTT, S. T. Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of *Camellia sinensis* by oxidation during tea fermentation. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1331–1342, 2011.
- DE MARIA, C. A. B. DE; MOREIRA, R. F. A. Cafeína: Revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 99–105, 2007.
- NOVAK, I.; ŠERUGA, M.; KOMORSKY-LOVRIĆ, Š. Characterisation of catechins in green and black teas using square-wave voltammetry and RP-HPLC-ECD. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1283–1289, 2010.
- ODORIZZI, C. M. C.; JÚNIOR, A. A. S.; LEMOS, M. DE P. Flores comestíveis : revisão sobre os aspectos nutraceuticos e o uso na alimentação e na gastronomia. **Nutrição Brasil**, v. 13, n. 3, p. 184–189, 2014.
- PAGANINI-COSTA, P.; CARVALHO DA-SILVA, D. Uma Xícara (chá) de Química. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 1, p. 27–36, 2011.
- PATEL, S. *Hibiscus sabdariffa*: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 23–27, 2014.
- QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68–76, 2001.
- RAHIM, A A; NOFRIZAL, S.; SAAD, B. Rapid tea catechins and caffeine determination by HPLC using microwave-assisted extraction and silica monolithic column. **Food chemistry**, v. 147, p. 262–268, 2014.
- RAMALHO, S. A.; NIGAM, N.; OLIVEIRA, G. B.; et al. Effect of infusion time on phenolic compounds and caffeine content in black tea. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 155–161, 2013.



ROSTAGNO, M. A.; MANCHÓN, N.; D'ARRIGO, M.; et al. Fast and simultaneous determination of phenolic compounds and caffeine in teas, mate, instant coffee, soft drink and energetic drink by high-performance liquid chromatography using a fused-core column. **Analytica chimica acta**, v. 685, n. 2, p. 204–211, 2011.

SHARANGI, A. B. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) – A review. **Food Research International**, v. 42, n. 5-6, p. 529–535, 2009.

SILVA, S. R. .; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J. Uso do chá-preto (*Camellia sinensis*) no controle do diabetes mellitus. **Revista de**

**Ciências farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 3, p. 133–142, 2010.

VAZ, F. L.; MOUCO, M. A.; GOUVEIA, E. R. Validation of HPLC-UV method to determine paclobutrazol in soil. **Revista Analytica**, v. 68, p. 2005–2008, 2014.

WEI, K.; WANG, L.-Y.; ZHOU, J.; et al. Comparison of catechins and purine alkaloids in albino and normal green tea cultivars (*Camellia sinensis* L.) by HPLC. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 720–724, 2012.

Correspondência:

Sandra Liliana Albornoz Marín

slam1503@hotmail.com, UTFPR Câmpus Pato Branco, Pato Branco, Brasil.

Recebido: 30/07/2014

Aprovado: 07/04/2015

Como citar: Marín, Sandra Liliana Albornoz; Pereira, Daiane; Carminatti, Rafaela;

(NBR 6023)

Oldoni, Tatiane Luiza Cadorin; Rodrigues, Marcio Barreto. Extração, identificação e quantificação de cafeína em chá composto (*Camellia sinensis* e *Hibiscus sabdariffa* L.) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Syn. Scy. UTFPR**, Pato Branco, v. 10, n. 1, p. 59–66, jan./mar. 2015. ISSN 2316-4689 (Eletrônico). Artigos convidados da SIMTEQ 2014, Pato Branco-PR. Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/synscy>>. Acesso em: DD mmm. AAAA.

DOI: “em processo de registro”

Direito autoral: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.