

Isolamento de Cafeína e estudo microbiológico de Chá preto (*Camellia sinensis*) comercializado no município de Solânea – PB.

RESUMO

A separação de substâncias presentes em materiais de uso comum, tais como de alimentos e bebidas é atrativa para os alunos. Neste trabalho apresentamos uma forma de extração da cafeína de fácil execução e com rendimento suficiente para serem facilmente visualizados a partir de folhas de chá preto adquiridos em feira livre. Utilizamos técnicas cromatográficas para a observação da cafeína pura e, ainda, realizamos uma análise microbiológica comparativa de contaminação do chá proveniente de feira livre e o industrializado, segundo metodologias da APHA (1985) e VANDERZANT & SPLITSTOOSER (1992). A cafeína foi isolada utilizando técnicas de recristalização e, cromatografia e foi identificada através de determinação de ponto de fusão. O teor de cafeína isolada foi menor que o encontrado na literatura e menor que o mínimo recomendado pela legislação. O chá industrializado mostrou-se menos contaminado em comparação com o de feira livre. O valor encontrado neste trabalho foi de <3 NMP/g, enquanto que a legislação recomenda um máximo de 10 NMP/g de coliformes fecais em todas as amostras analisadas. Portanto, conclui-se que do ponto de vista higiênico-sanitário, as amostras podem ser consumidas por não apresentarem coliformes fecais.

Palavras-chave: Chá preto; extração de cafeína; microbiológica.

1 - INTRODUÇÃO

O chá preto (*Camellia sinensis*) é um arbusto sempre-verde que cresce em regiões tropicais ou sub-tropicais. Pode atingir mais de 10 metros de altura, mas é mantido, através de podas regulares, nos 90 a 110cm, uma altura mais conveniente para colheita. (<http://reviravolta.comercio.justo.org/new%2ofolder/plantaacha.pdf>)

A cafeína é um alcalóide, um composto contendo nitrogênio, que apresenta propriedades básicas. Ela pertence a uma classe de compostos de ocorrência natural chamada xantina. Possivelmente, as xantinas são os estimulantes mais antigos conhecidos sendo que, neste contexto, a cafeína é um dos mais potentes (IKAN, 1991).

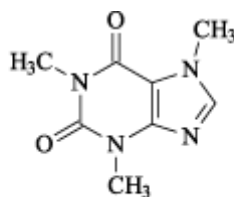


Figura 1. Fórmula estrutural da cafeína

Os principais efeitos (FAUST, 1993) fisiológicos da atuação da cafeína no organismo humano são o efeito estimulante, o efeito diurético e a dependência química. Entre outros efeitos, causa o aumento da taxa metabólica, o relaxamento da musculatura lisa dos brônquios, do trato biliar, do trato gastrointestinal e de partes do sistema vascular. Após cinco minutos do consumo, a cafeína pode ser detectada em todo o corpo humano, atingindo o seu máximo depois de 20-30 min (COTTON, 2000). Ela é metabolizada no fígado e tem uma meia vida de cerca de 3-6 h, não acumulando no corpo. A ingestão de cafeína em excesso pode causar vários sintomas desagradáveis incluindo a irritabilidade, dores de cabeça, insônia, diarreia, palpitações do coração. A dose letal para uma pessoa adulta pesando 70 kg é cerca de 10 g o que é equivalente a se tomar 100 xícaras de café ou 200 latas de Coca-Cola ou ingerir 50 kg de chocolate (OTTEWILL, 1999).

Todas as superfícies de plantas possuem uma flora de microrganismos própria que pode estar suficientemente especializada. É possível que o número de microrganismos existentes nas superfícies das folhas das plantas jovens são sejam muito escassa, mas as espécies que nelas estão encontram-se perfeitamente adaptadas e esse meio especializado. Com frequência são encontrados vários tipos de fungos (ADAMS & MOSS, 1997).

As plantas têm desenvolvido vários mecanismos para se defender das infecções por microrganismos, mas existem algumas espécies de fungos e bactérias que vencem esta resistência e causam enfermidades nas plantas e algumas delas também causam problemas de alteração após a colheita e o armazenamento (ADAMS & MOSS, 1997).

O objetivo deste trabalho foi isolar, purificar, quantificar a cafeína do chá preto através de método simples de extração e comparar a contaminação deste chá adquirido em feira livre com o industrializado, assim como, comparar a contaminação após 45 dias de armazenamento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Material

Foram analisadas três amostras de chá preto, uma adquirida em feira livre e duas de marcas diferentes, de supermercado da cidade de Solânea-PB, denominadas de A, B e C respectivamente.

As amostras foram conduzidas ao Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos, do Centro de Formação de Tecnólogos, Campus-III da UFPB, sendo então realizadas as extrações e posterior análises cromatográficas e microbiológicas. A pesquisa dos microrganismos em nas amostras do chá preto foram realizadas nos tempos 0 e 45 dias (armazenadas em temperatura ambiente).

2.2 - Método

2.2.1 - Extração e Cromatografia

Pesaram-se 66,7g de chá preto da amostra tipo A e em um Becker de 1L adicionamos 250mL de água e 28,3g de Carbonato de cálcio e então se ferveu por 20 minutos. Em seguida a mistura foi filtrada a quente em um funil de Buckner. O filtrado foi colocado em um funil de separação onde foi realizada uma extração líquido-líquido tendo sido obtida a solução contendo cafeína impura, a qual o solvente foi destilado e então foi obtida a cafeína no estado sólido. Em seguida foram realizadas sucessivas recristalizações com diclorometano e gotas de éter de petróleo. A partir de então se obteve a cafeína pura. Comprovada através de ponto de fusão e cromatografia de camada delgada (CCD) eluída com clorofórmio (99,5%):metanol (0,5%), segundo Adams et al. (1970).

2.2.2 – Análises microbiológicas

- Preparo da amostra: Tomaram-se alíquotas de 10g de cada amostra do chá preto, tendo estas sido homogeneizadas em 90mL de água peptonada a 0,1%. Partindo-se desta diluição (10^{-1}) foram preparadas diluições decimais sucessivas até 10^{-3} .
- Contagem total dos bolores e leveduras: Resultados expressos em UFC/g, segundo metodologia utilizada por (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1985).
- Quantificação de bactérias coliformes: Resultados expressos em NMP/g (VANDERZANT & SPLITSTOSSER, 1992).

3 . RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi obtido **0,36g** de cafeína pura apresentando um rendimento de **0,29%** comparado com a massa total da amostra de chá preto inicial. O ponto de fusão foi entre **234-236° C**, que esta de acordo com ONAMI & KANAZAWA (1996). A legislação recomenda um valor mínimo de cafeína de 1,5% p/p.

Nas Tabelas 1 e 2 são apresentados os valores das análises microbiológicas realizadas nas amostras do chá preto nos tempos 0 e 45 dias de armazenamento em temperatura ambiente.

TABELA 1 – Resultados da análise microbiologias das amostras do chá preto no tempo 0.

Amostras	Coliformes totais NMP/g	Coliformes fecais NMP/g	Bolores e Leveduras UFC/g
A	<3	<3	<1x10 ²
B	<3	<3	<1x10 ²
C	<3	<3	<1x10 ²

A – Amostra proveniente da feira livre

B e C – Amostras de chá preto industrializadas de marcas 1 e 2, respectivamente.

TABELA 2 – Resultados da análise microbiologias das amostras do chá preto no tempo 45 dias.

Amostras	Coliformes totais NMP/g	Coliformes fecais NMP/g	Bolores e Leveduras UFC/g
A	<3	<3	7×10^4
B	<3	<3	1×10^2
C	<3	<3	1×10^2

No tempo 0, de acordo com os resultados acima mostrados pode-se observar que as amostras analisadas, em relação as bactérias do grupo coliformes, apresentaram valores menores do que recomenda a legislação brasileira (Resolução – CNNPA N° 12, 1978), que é de no máximo de 10 NMP/g (coliformes fecais). Para bolores e leveduras, a citada resolução não determina os valores máximos permitidos.

Após 45 dias de armazenamento a temperatura ambiente, houve um crescimento acentuado dos bolores e leveduras, que apresentou um valor de 7×10^4 UFC/g. A contagem das bactérias coliformes permaneceu inalterável durante o período de armazenamento.

5. CONCLUSÕES:

O teor de cafeína isolado e purificado foi menor que o encontrado na literatura consultada e menor que o mínimo recomendado pela legislação, com esses dados, podemos concluir que o método utilizado para isolamento da cafeína não é eficaz para determinação quantitativa e sim apenas qualitativamente, pois seria necessário o uso de um cromatógrafo a gás acoplado e um espectro de massa (CG-EM) ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

É possível o isolamento de cafeína a partir de técnicas usuais e simples de recristalização e cromatografia uma quantidade significativa, inclusive para testes posteriores visando hemi-síntese de derivados.

Do ponto de vista das condições higiênico-sanitárias, as amostras analisadas encontram-se dentro dos padrões microbiológicos para consumo.

A elevada contagem de bolores e leveduras após 45 dias de armazenamento a temperatura ambiente deve-se, provavelmente, ao elevado índice de umidade, uma vez, que a amostra foi adquirida em feira livre e sem embalagem.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Microbiología de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia. 1997. 461p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. Standard method for the examination of dairy products. 14th ed. Washington.1985.410p.

ONAMI, T.; KANAZAWA, H. **Journal of Chemical Education**. 1996. v.73. 556p.

IKAN, R. **Natural Products: A Laboratory Guide**. Harcourt Brace Jovanovich Publishers: New York, 1991, 226p.

FAUST, C. B. **Educ. Chem**. 1993. v.30. 149p.

COTTON, S. **Educ. Chem**. 2000. v.37. 34p.

OTTEWILL, G. **Educ. Chem**. 1999. v.36. 4p.

VANDERZAN, C.; SPLITSTOESSER, D. F. **Compedium of methods for the microbiological examination of foods**. 3rd . Washington. 1992.410p.

REVIRAVOLTA.**Planta do chá**. Disponível em:

<<http://reviravolta.comercio.justo.org/new%2ofolder/plantaacha.pdf> - acesso em: 20/08/2006