



UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
CENTRO DE CIÊNCIAS INTEGRADAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM QUÍMICA

ERIK ALMEIDA CARVALHO

**PERFIL QUÍMICO DO CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*):
IDENTIFICAÇÃO DA CAFEÍNA E DOS COMPOSTOS
VOLÁTEIS POR HPLC-DAD, GC-MS E FTIR**

Araguaína/TO
2024

Erik Almeida Carvalho

**PERFIL QUÍMICO DO CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*):
IDENTIFICAÇÃO DA CAFEÍNA E DOS COMPOSTOS
VOLÁTEIS POR HPLC-DAD, GC-MS E FTIR**

Monografia apresentada à Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Campus de Ciências Integradas para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Edenilson dos Santos Niculau.

Araguaína/TO
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Geração de Ficha Catalográfica SGFC-UFNT

Gerado automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A447p Almeida Carvalho, Erik.

PERFIL QUÍMICO DO CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*):
IDENTIFICAÇÃO DA CAFEÍNA E DOS COMPOSTOS
VOLÁTEIS POR HPLC-DAD, GC-MS E FTIR / Erik Almeida
Carvalho. - Centro de Ciências Integradas - CCI, TO, 2024.
58 f.

Monografia Graduação (Graduação - em Química) --
Universidade Federal do Norte do Tocantins, 2024.

Orientador: Ednilson dos Santos Niculau.

1. Química. 2. Caracterização. 3. Chá verde-cafeína.

CDD 540

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

FOLHA DE APROVAÇÃO

ERIK ALMEIDA CARVALHO

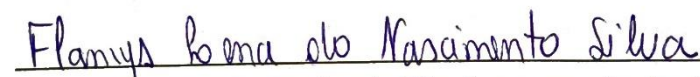
PERFIL QUÍMICO DO CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*): IDENTIFICAÇÃO DA CAFEÍNA E DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR HPLC-DAD, GC-MS E FTIR

Monografia apresentada à UFNT – Universidade Federal do Norte do Tocantins – Centro de Ciências Integradas, Curso de Licenciatura em Química foi avaliado para a obtenção do título de Licenciado em Química e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 11 / 12 / 2024

Banca Examinadora


Prof. Dr. Edenilson dos Santos Niculau (Orientador), UFNT


Prof. Dra. Flamys Lena do Nascimento Silva (banca examinadora), UFNT


Prof. Dr. Daniel Augusto Barra de Oliveira (banca examinadora), UFNT

Araguaína, 2024

Folha dedicatória

*Mas, sejam fortes e não
desanimem, pois o
trabalho de vocês será
recompensado". 2
crônicas 15:7*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui. Foram períodos de lutas e vitórias para que este momento chegasse.

Agradeço aos meus pais pelo apoio e incentivo durante esse tempo de curso. Sem eles, dificilmente teria conseguido finalizar o curso e me tornar quem sou hoje. Não existem palavras que possam descrever o que eles significam para mim.

Agradeço também a minha namorada Raillany pelo incentivo, apoio e carinho nessa caminhada, pelas palavras de incentivo nos momentos mais difíceis. Sua paciência, carinho e força foram fundamentais e determinantes para que eu pudesse concluir esta etapa. Eu amo você.

Gostaria de agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Edenilson dos Santos Niculau pelos ensinamentos e parceria durante o período de Iniciação Científica.

Aos professores do colegiado do curso de licenciatura em Química: Flamys, Francisco, Renata, Paiva, Niculau, Jane, Verenna, Josilãna, Maiko e Adriana. Agradeço também aos técnicos de laboratório Gildeth e Gilberto pelo aporte e carinho.

Aos meus colegas/amigos do PET e ao querido Tutor, Wagner dos Santos Mariano, que me orientou e ajudou bastante durante os anos incríveis de 2023 e 2024 de experiências que compartilhamos. Obrigado, Talita, Arthur, Luis Vinicius, Julianne, Thauane, Pedro Sobrinho, Pedro Rian, bLucas, Wandria, Ronald, Adrielle, João Vitor, Victor, Karen, Eduardo, Pedro Viana, Ana Vitória e Dionata.

Agradeço a muitos outros que direta ou indiretamente contribuíram à minha formação e influenciaram a chegar nesse momento tão importante da minha vida.

RESUMO

Especificamente, os chás vêm sendo amplamente reconhecidos como a segunda bebida mais consumida atualmente, apresentando fontes significativas de cafeína e compostos fenólicos, que possuem alta atividade antioxidante. Os compostos antioxidantes são substâncias que agem diminuindo os efeitos ocasionados pelos radicais livres e dentre outros compostos antioxidantes. A cafeína é um alcaloide, que pertence ao grupo das metilxantinas, também denominado como 1,3,7-trimetilxantina, que pode ser ou ainda, trimetildioxipurina. Além disso, a cafeína está presente em diversas plantas: folhas, sementes, raízes, cascas e alguns alimentos. O presente trabalho propôs-se analisar e identificar os compostos presentes em amostra de chá verde e cafeína presente no chá verde e chá preto através das técnicas (Headspace-Solid Phase Microextraction/Gas Chromatography–Mass Spectrometry), HPLC-DAD (High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector) e FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy). Sendo assim, os resultados mostraram-se promissores em relação a caracterização e investigação dos compostos voláteis e cafeína. A análise por GC-MS foi satisfatória, pois possibilitou analisar os compostos voláteis presente no chá verde, bem como a análise por HPLC-DAD, que evidenciaram a absorção da cafeína no UV com pico máximo de absorção em 262 nm e 268 nm. As análises por FTIR permitiram identificar e evidenciar a similaridade entre bandas de absorção do extrato de chá verde e extrato de chá preto em relação aos grupos funcionais presentes. Este estudo representou uma proposta simples e acessível para a identificação dos compostos voláteis no chá verde e caracterização da cafeína no chá verde e preto, com perspectiva para futuras aplicações em larga escala.

Palavras-chaves: Chá preto. Caracterização. HS-SPME. Extrato. Isolamento.

ABSTRACT

Specifically, teas have been widely recognized as the second most consumed beverage today, providing significant sources of caffeine and phenolic compounds, which have high antioxidant activity. Antioxidant compounds are substances that reduce the effects caused by free radicals, among other antioxidant compounds. Caffeine is an alkaloid that belongs to the methylxanthine group, also known as 1,3,7-trimethylxanthine or trimethylidioxypurine. Additionally, caffeine is found in various plants: leaves, seeds, roots, bark, and some foods. This study aimed to analyze and characterize the compounds present in green tea samples and the caffeine present in green and black tea using the techniques Headspace-Solid Phase Microextraction/Gas Chromatography–Mass Spectrometry (HS-SPME/GC-MS), High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector (HPLC-DAD), and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). The results were promising regarding the characterization and investigation of volatile compounds and caffeine. The GC-MS analysis was satisfactory, allowing the examination of volatile compounds in green tea, as well as the HPLC-DAD analysis, which highlighted caffeine absorption in the UV with a maximum absorption peak at 262 nm and 268 nm. The FTIR analyses made it possible to identify and demonstrate the similarity between the absorption bands of caffeine in green and black tea concerning the functional groups present. This study represented a simple and accessible approach for identifying volatile compounds in green tea and characterizing caffeine in green and black tea, with potential for future large-scale applications.

Key-words: Black tea. Characterization. HS-SPME. Extract. Isolation.

.

.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Flores e folhas de <i>C. sinensis</i>	18
Figura 2- Estruturas químicas de algumas catequinas presentes no chá verde.....	24
Figura 3- Mecanismo de eliminação de radicais livres pelos flavonóides e sua contribuição para a atividade antioxidante dos flavonoides.....	25
Figura 4- Estrutura química da Rutina.....	26
Figura 5- Classes principais dos flavonoides.....	27
Figura 6- Estrutura química da cafeína (1,3,7-trimetilxantina).....	28
Figura 7- Chá verde utilizado para as infusões.....	29
Figura 8- Diagrama da identificação dos compostos voláteis do chá verde.....	30
Figura 9- Chá preto utilizado para o isolamento da cafeína.....	32
Figura 10- Diagrama do isolamento da cafeína do chá preto.....	33
Figura 11- Diagrama do preparo da solução estoque chá verde.....	34
Figura 12- Diagrama do preparo da solução trabalho de chá verde.....	34
Figura 13- Diagrama do preparo da solução estoque da cafeína isolada.....	35
Figura 14- Diagrama do preparo da solução trabalho da cafeína isolada.....	35
Figura 15- Diagrama do preparo da solução do extrato de chá preto.....	36
Figura 16- Estruturas químicas de alguns compostos presentes no chá verde.....	38
Figura 17- Cromatograma de íons totais dos voláteis das folhas de chá verde por HS-SPME/GC-MS.....	41
Figura 18- Espectro de massas da biblioteca do software para o Limoneno	41
Figura 19- Espectro de massas do Limoneno.....	42
Figura 20- Espectro de massas da biblioteca do software para a (α)- ionona.....	42
Figura 21- Espectro de massas do (α)- ionona.....	43
Figura 22- Espectro de massas da biblioteca do software para o Anetol.....	43
Figura 23- Espectro de massas do Anetol.....	44
Figura 24- Cromatograma HPLC da cafeína isolada do chá preto extraído em 254 nm.....	44
Figura 25- Cromatograma HPLC do extrato de chá verde extraído em 254 nm.....	45
Figura 26 - Espectro UV da cafeína do extrato de chá verde.....	46
Figura 27- Espectro UV da cafeína pura isolada do chá preto.....	47

Figura 28 - Espectro IV da cafeína isolada.....	48
Figura 29 - Espectro de FTIR da cafeína monoidratada.....	29
Figura 30 - Espectro IV para o extrato de chá verde (vermelho) e de chá preto (preto).....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Constituintes químicos das folhas de chá verde identificados por HS-SPME/GCMS.....	38
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFNT	Universidade Federal do Norte do Tocantins
GC-MS	Gas Chromatography–Mass Spectrometry
HPLC-DAD	High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector
HS-SPME	Headspace-Solid Phase Microextraction
IR	Índice de Retenção
nm	nanômetro
µL	microlitro
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
PDMS/DVB	Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos específicos	15
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1	Histórico do chá verde pelo mundo.....	17
3.2	Chá verde no Brasil.....	17
3.3	<i>Camellia sinensis</i>	18
3.4	Efeitos Biológicos da <i>Camellia sinensis</i>	19
3.5	Bioativos do chá verde.....	21
3.6	Compostos fenólicos.....	22
3.7	Cafeína.....	27
4	METODOLOGIA	29
4.1	Execução do trabalho.....	29
4.2	Obtenção e preparo das amostras.....	29
4.3	Extração dos compostos voláteis por HS-PME.....	29
4.4	Análise via GC-MS.....	31
4.5	Chá preto comercial.....	31
4.6	Isolamento da cafeína.....	32
4.7	Preparo da solução do extrato de chá verde com metanol/água.....	33
4.8	Preparo da solução da cafeína isolada do chá preto com metanol/ água	34
4.9	Preparo da solução do extrato de chá preto com metanol/ água.....	36
4.9.1	Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD).....	37
4.9.1.2	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	Caracterização dos compostos orgânicos voláteis.....	37
5.2	Análise HPLC-DAD.....	42
5.3	Análise por FTIR.....	46
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS (primária)	48
7	REFERÊNCIAS	49

1. Introdução

Estudos relacionados a fitoterápicos desenvolvidos e extraídos a partir de plantas medicinais estão amplamente realizados tanto no Brasil quanto no mundo, devido à alta procura por alternativas naturais que possam substituir tratamento convencional a base de medicamentos. Nesta perspectiva, diversos trabalhos têm confirmado os efeitos significativos do chá como um fármaco poderoso, no qual foi muito utilizado pelos povos antigos para tratamento de diversas enfermidades. Além disso, muitos destes estudos vêm mostrando resultados promissores no que diz respeito à presença de compostos antioxidantes, que desempenham um papel de extrema importância no organismo humano (DUFRESNE e FARNWORTH ER, 2001).

A *Camellia sinensis* (L) Kuntze é uma planta medicinal da família das Theacea que vem sendo amplamente utilizada desde a antiguidade, especialmente pela população asiática, que naquela época já fazia uso da planta como uma alternativa para tratar algumas patologias. Além do mais, as ervas da *C. sinensis* é bastante empregada na medicina tradicional, em virtude da sua alta quantidade de propriedades estimulantes e desintoxicantes. A anatomia e a morfologia da folha da *C. sinensis* exercem um papel de extrema importância na taxonomia vegetal, especialmente na caracterização de taxon. Tricomas unicelulares facilitam a identificação anatômica foliar da planta (DUARTE & MENARIM, 2006). Além disso, o chá da *Camellia sinensis* pode ser ranqueado em diferentes tipos de chá em relação aos diferentes métodos de processamento empregados, como chá verde, chá branco, chá preto e chá oolong.

Chá verde é produzido através da planta *Camellia sinensis*, sendo que as suas folhas passam por um tratamento térmico, com a finalidade de inativar as suas enzimas, principalmente as polifenolases. O processo de estabilização, usando tratamento térmico, acaba mantendo os polifenóis presentes na planta. Sendo que, vários destes polifenóis, em particular as catequinas, tem ganhado muita notoriedade na comunidade científica, especialmente por comprovarem atividades antioxidante, quimiopreventiva, anticarcinogênica, anti-inflamatória (RIJKEN et al., 1996; SATO e MIYA TA, 2000; GOSSLAU e CHEN, 2004), antidiabética (ANDERSON e POLANSKY, 2002; SABU et al., 2002), antimicrobiana (HAMILTON-MILLER, 1995 e 2001). Entre as catequinas, a epigalocatequina galato (EGCG) destaca-se por manifestar uma maior meia-vida, sendo ligeiramente absorvida pelo organismo. Todavia, quando

utilizada isoladamente, sua meia-vida é diminuída em comparação àquela observada quando está correlacionada a outros compostos presentes no chá verde (SCHMITZ et al., 2005).

Em sua constituição química, o chá verde apresenta milhares de compostos químicos, que são essenciais para consumo. Destacando-se principalmente, os flavonoides, como miricetina, quercetina e Kaempferol. Entre os flavonóides, é possível destacar os flavonóis, representando cerca de 3%, enquanto as catequinas são responsáveis por 30% da constituição. Além do mais, o chá verde também contém outros elementos, como proteínas, carboidratos, vitaminas C e K, sais minerais, aminoácidos e cafeína (SAIGG; SILVA, 2009; ANNELI et al., 2016).

Neste contexto, o presente trabalho conduzido em meio a um ano como parte de um projeto de iniciação científica, teve por finalidade aprofundar a compreensão sobre identificação e caracterização de compostos orgânicos voláteis, cafeína, extrato de chá verde e chá preto, por meio de diferentes técnicas instrumentais que serão citadas neste trabalho.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Conhecer a composição química do chá verde (*Camellia sinensis*).

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1 Extrair os compostos químicos voláteis do chá verde e isolar cafeína;
- 2.2.2 Identificar os compostos químicos voláteis do chá verde por Microextração em Fase Sólida no modo headspace associada à Cromatografia a Gás acoplado a Espectrometria de Massas (HS-SPME/GC-MS);
- 2.2.3 Identificar cafeína presente no chá verde bruto aquoso e cafeína isolada do chá preto por HPLC-DAD;
- 2.2.4 Caracterizar extrato de chá verde e extrato de chá preto por FTIR.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 História do chá verde pelo mundo

A utilização de plantas medicinais como tratamento de diversas doenças vem aumentando muito nos últimos anos pelo mundo, especialmente nos países asiáticos. O seu uso está muito atrelado aos benefícios terapêuticos que o vegetal proporciona para o organismo, sendo fundamental no combate de diversas doenças, (SCHMITZ et al.,2005).

O consumo de chá foi introduzido pela corte portuguesa, no século XVIII, por influência de Catarina de Bragança, filha do rei João IV. Catarina tinha um grande apreço pelo chá, que conseqüentemente, acabou tornando o uso da bebida de forma mais frequente, como forma de um ritual, bem como passando esse hábito para as outras cortes daquela época. (FIRMINO, 2011).

Naquela época, o uso do chá era muito menos frequente entre a população com poder aquisitivo menor, devido ao seu autovalor de comercialização. Desta maneira, o seu consumo era feito somente por pessoas aristocráticas e da realeza que possuíam uma boa situação econômica, tornando o chá um produto totalmente inacessível para a população daquela época. Entretanto, com uma maior procura pelo chá, o manuseio e sua utilização aumentaram gradativamente, fazendo com que o comércio chinês crescesse também, e conseqüentemente, oportunizando um acesso mais facilitado, devido à expansão do comércio marítimo de alguns países asiáticos (FIRMINO, 2011).

Durante o século XVIII, os operários que trabalhavam nas fábricas escolheram o chá como a bebida mais consumida em seus serviços. Contudo, ainda nessa mesma época, foi a companhia britânica das Índias Orientais a principal precursora da comercialização do chá entre os trabalhadores. À medida que a China iniciou os processos de importações de mercadorias, a taxa do chá consumido cresceu, (Schmitz et al., 2005).

O chá verde, nos últimos anos, foi considerado pelos povos antigos como uma bebida extremamente benéfica para a saúde. Os estudos de Saigg e Silva (2009) traduzem muito bem alguns dos principais benefícios. Os autores reforçam, por meio desses estudos, que o chá verde é descrito como uma bebida harmoniosa, já que a bebida contém características de proporcionar tranquilidade, conexão cultural, equilíbrio sensorial, podendo contribuir de forma positiva na saúde humana.

3.2 Chá verde no Brasil

Pesquisas e estudos sobre chá verde no Brasil ainda são muito escassos, já que tradicionalmente o Brasil não é visto como produtor do chá em relação aos países asiáticos que produzem estudos em larga escala. Conforme Saigg e Silva (2009), o chá chegou ao Brasil devido à imigração do povo chinês, nos quais eles ensinaram como manusear, plantar e utilizar essa poderosa bebida.

A comercialização do chá no Brasil foi ingressada pela família Real Portuguesa, no século XIX. O plantio acabou se estabelecendo por intermédio do D. João VI, responsável pelo fornecimento ao rei. Além disso, há relatos de que a bebida foi enquadrada de forma gradual por Luiz de Abreu, um comerciante de Portugal, que tinha consigo as sementes da *Camellia sinensis* e a deu a D. João VI. Durante esse mesmo período, foram fornecidas diversas unidades da planta para as cortes a pedido do rei. A partir desse instante, suas características passaram a ser identificadas, ampliadas e comercializadas por toda a região, Paganini Costa e Da Silva (2011).

Sendo assim, após o aumento de mais imigrantes chineses, o plantio cresceu e teve um aumento significativo em sua comercialização, devido aos aspectos culturais e às experiências trazidas dos povos asiáticos (PAGANINI COSTA, DA SILVA, 2011). Além disso, o cultivo *C. sinensis* ampliou-se para os estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná. Atualmente, a região que mantém o monopólio de maior fornecedora de chá é o Vale da Ribeira, localizado na cidade de São Paulo. (TSUKAMOTO et al., 1994). Ainda em solo brasileiro, as infusões caseiras do chá têm

ganhado espaço mediante ao grande consumo da população em geral, como também da cultura antiga, que se fazia uso de ervas medicinais (VULCANO et al., 2003).

3.3 *Camellia sinensis*

A *Camellia sinensis* (L.) Kuntze é uma planta arbustiva ou de porte arbóreo reduzido, propriamente originária da Ásia e pertencente à família Theaceae. Suas folhas são simples, alternadas, inteiras, com bordas serrilhadas e têm uma textura coriácea (LORENZI; MATOS, 2002). Sendo conhecida mundialmente como chá verde, chá da Índia, chá preto. O seu plantio está presente em vários países asiáticos, florescendo mais ou menos no início do ano.

Além disso, são comumente cultivadas por meio de sementes em regiões tropicais e subtropicais da China, Indonésia e alguns países asiáticos. Ademais, a planta do chá verde abrange cerca de 200 compostos bioativos e mais 200 substâncias, sendo que 1/3 são polifenóis (LABDAR, 2010). O tamanho dela pode variar em 1 a 6 metros de altura, enquanto sua cobertura pode ter em torno de 60 cm e 4 metros de diâmetro (HUANG, 1993; BOWN, 1995; BRUNETON, 1996).

Figura 1 - Flores e folhas de *C.sinensis*



FONTE: William C.W.

Além disso, essa planta, por meio da sua preparação, dá proveniência a três tipos de chá diferentes, tendo originalidade da mesma espécie de planta. O chá verde é produzido mediante o processamento das folhas recentemente colhidas. Ao longo

do seu processamento, as folhas são submetidas a um processo de aquecimento, visando inativar as enzimas catalíticas, prevenindo assim a oxidação dos compostos bioativos presentes no chá (RADOMINSKI, 2007 in SÁ, TURELLA, BETTEGA, 2007)

Segundo Schmitz et al. (2005), a *Camellia sinensis* tem diversas maneiras de ser aproveitada, que incluem a fabricação de chá até a obtenção de extratos hidroalcoólicos e aquosos, utilizados tanto de forma oral quanto de forma tópica. Recentemente, a *C. sinensis* tem ganhado grande importância devido à sua alta capacidade de aplicação e utilização, especialmente para produção de uma variedade de bebidas, como chá verde, chá preto, chá branco e chá onlong. Além disso, os polifenóis presentes no chá verde possuem diversas propriedades antioxidantes, que ajudam no combate aos radicais livres.

3.4 Efeitos biológicos da *Camellia sinensis*

O chá verde vem sendo muito correlacionado com diversos benefícios que o mesmo traz para a saúde, uma vez que a bebida contém grandes concentrações de antioxidantes, que têm um papel fundamental na saúde humana (RUSAK et al., 2008). O aumento do interesse por bebidas que apresentem um alto grau de propriedades funcionais vem crescendo muito, principalmente pela sua potencialidade de combater algumas doenças (ANESINI et al., 2008; WANG et al., 2010).

A utilização de plantas que apresentem elevadas quantidades de compostos funcionais, na maioria das vezes, manifesta grande quantidade de substâncias antioxidantes presentes. Do ponto de vista alimentício, substâncias antioxidantes presentes em ervas têm conquistado um largo espaço no cenário mundial, atraindo o interesse da população e dos pesquisadores. Além disso, vários estudos vêm apontando diversos esboços experimentais com in vitro, avaliando a atividade antioxidante em diversos chás, como também analisando a presença de compostos fenólicos (FARHOOSH et al., 2007; KARORI et al., 2007; KOMES et al., 2010; ZHU et al., 2011).

Para Cabrera et al., (2003). Embora haja diversos dados na literatura que mostrem o consumo ideal de chá verde, ainda não foi totalmente elucidada em relação à quantidade correta, visto que, depende muito da forma de preparo do chá e de suas concentrações. Entretanto, segundo a American Dietetic Association (1999), aconselha-se aproximadamente cerca de 4 a 6 xícaras de chá verde para prevenir o surgimento de câncer no estômago e no esôfago.

Pesquisas com in vitro, conforme a comunidade científica, já se tem bastante dados, especialmente no que tange a resultados positivos dos mecanismos contra células tumorais, em praticamente todos os estágios da doença, sendo o extrato de chá utilizado na maioria desses estudos, tendo as catequinas presentes no chá as principais responsáveis pela proteção da vida celular das células. Dado que essas catequinas apresentam substâncias antioxidantes capazes de destruir os radicais livres (DROGE, 2002; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA 2006^a; SENGER et al., 2010).

Em seres humanos, diversos estudos na literatura vêm mostrando efeitos biológicos proporcionados pela bebida, tais como: anti-inflamatórias, antiaterogênicas, hipoglicemiantes e anticarcinogênicas (ADCOCKS et al., 2002; SUEOKA et al., 2003; NAKACHI et al., 2003; CAMPBELL, 2004; DEVINE et al., 2007). A ação anti-inflamatória da bebida está atrelada à inibição de aspectos funcionais dos neutrófilos, como a desabrigação de enzimas lisossomais em resposta à quimioluminescência e a produção de radicais livres. Outro benefício de suma importância do chá verde é no que diz respeito ao controle da gordura corporal, pois alguns flavonóides presentes no chá apresentam um alto potencial de agir sobre o sistema nervoso, conseguindo assim, aumentar a termogênese e a oxidação das gorduras (LIN & LIN, 2006).

Os efeitos antiaterogênicas estão intimamente ligados ao combate contra o LDL no plasma, sendo um passo crucial na construção de placas de aterosclerose. Pesquisas no que diz respeito à aterogênese em ratos, comparando a eficiência de chá preto e chá verde em impedir o desenvolvimento da aterosclerose, comprovou

que o chá verde foi capaz de minimizar a formação de placas ateromas em 48% e 63% (MIYAZAWA, 2000). Este efeito é atribuído ao acréscimo da sensibilidade à insulina proporcionada pelos polifenóis do chá verde (WU et al., 2004).

A busca incessante pelo chá verde está intrinsecamente ligada às pesquisas científicas que mostram que o consumo adequado de alimentos à base de flavonóides está relacionado com um menor risco de desenvolver doenças degenerativas, como câncer e doenças cardiovasculares. Estudos realizados por AZAM et al. (2004) e PERON et al. (2008) mostram essa relação entre o uso de flavonoides e o desenvolvimento dessas doenças. Em estudos com seres humanos, a literatura diz que o chá verde pode proporcionar alguns benefícios à saúde, como o efeito hipoglicemiante, manutenção da gordura corporal (diminuindo o apetite e aumentando o catabolismo das gorduras) e manutenção da densidade óssea (PERON et al., 2008; SENGER et al., 2010).

Para investigar se a epigalocatequina (EGCG), catequina presente no chá verde, atuaria na inibição da adipogênese e no mecanismo de morte celular programada. Lin et al. (2005), em seus estudos, incubou adipócitos maduros e pré-adipócitos em períodos e concentrações distintas de (EGCG). Através deste estudo, o autor chegou à conclusão de que, em certo estágio, a catequina interrompe o desenvolvimento das células gordurosas, como também nas células adiposas maduras.

Sendo assim, o modo de ação dos antioxidantes descobertos nos extratos de plantas medicinais, principalmente do chá verde tem uma importância significativa em relação à oxidação dos lipídios, tanto vegetal quanto animal, uma vez que ao ser usado para consumo humano, possui características inovadoras na saúde e bem-estar agindo especialmente contra os efeitos de algumas patologias que acometem grande parte da população, como aterosclerose e câncer (RAMARATHNAM et al., 1995).

3.5 Bioativos do chá verde

O chá verde, conhecido como *C. sinensis*, possui em sua constituição catequinas e flavonoides, compostos químicos nos quais apresentam propriedades medicinais altamente importante para o consumo humano, sendo um poderoso antioxidante e inibidor da lipoperoxidação (SOARES et. al., 2002; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a; PERON et. al., 2008).

O chá verde, proveniente da planta *Camellia sinensis*, contém em sua composição química catequinas e flavonóides, compostos bioativos reconhecidos por suas propriedades químicas e medicinais. Esses compostos atuam como potentes antioxidantes e inibidores da lipoperoxidação, executando um papel relevante para a saúde humana (SOARES et al., 2002; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a; PERON et al., 2008).

Em sua composição química, a planta *C. sinensis* varia conforme a espécie, como idade, estação do ano, clima (temperatura e altitude) e solo em relação às circunstâncias do cultivo da planta. Além disso, estão presentes em sua composição: carboidratos, ácidos fenólicos, aminoácidos, polifenóis, ácido ascórbico, micronutrientes (vitaminas B, E C), cafeína e substâncias com éster pelo ácido gálico (SCOTTI et al., 2007).

Pesquisas realizadas no último século salientam que o lugar onde a folha da planta é encontrada influência na quantidade de cafeína presente. Desta forma, segundo os dados da literatura, essa quantidade muda entre 2 a 4,6% da cafeína presente (BRENELLI et al., 2003).

Os polifenóis são denominados compostos constituídos da esterificação originados do trans-cinâmico com o ácido quínico, que são basicamente metabólitos secundários encontrados de forma abundante espalhados no reino vegetal (DEMARIA e MOREIRA, 2004). Já os fenólicos são especialmente derivados de metabólitos secundários das plantas, sendo primordiais no desenvolvimento das plantas, podendo agir contra patógenos e influenciando na coloração dos vegetais.

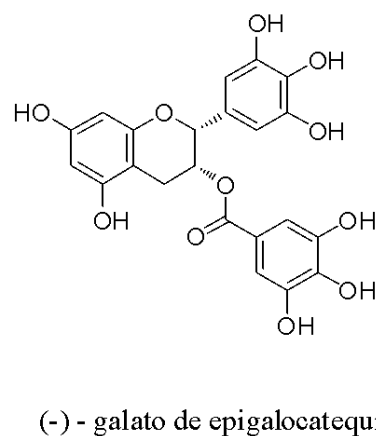
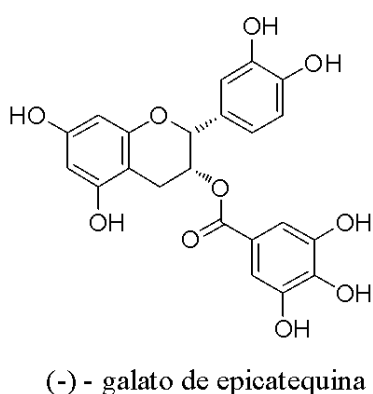
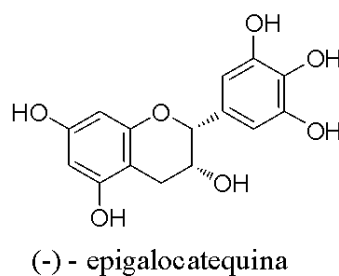
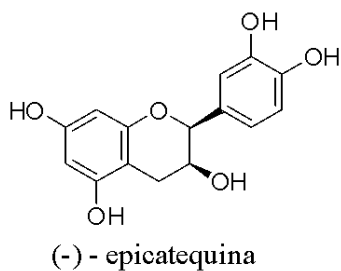
3.6 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são uma classe de compostos químicos que contêm a presença de cromóforo hidroxila ligado intimamente a um hidrocarboneto aromático, podendo ser de maneira simples ou de polímeros, que contribuem para a alta atividade antioxidante (ROBARDS et al., 1999). Além disso, pode contribuir na capacidade de complexação de íons metálicos, na desativação de reações radicalares, evitando a modificação de hidroperóxidos em oxi-radicais reativos (OLIVEIRA et al., 2009).

Em sua grande maioria, os compostos fenólicos são separados em dois grupos. O primeiro é o grupo dos flavonoides, que são compostos antioxidantes na qual possuem estrutura química que apresenta C6-C3-C3 (HARBORNE et al., 1999). Já o segundo, são os não flavonóides, conhecidos como ácido fenólico, que na maioria das vezes são encontrados em grupos, como: ácido hidroxibenzóico e derivados de ácido hidroxicinâmico. Os derivados do ácido hidroxicinâmico fazem parte da classe dos compostos fenólicos, que apresentam uma ocorrência natural, possuindo em sua estrutura um anel aromático de cadeia carbônica, contendo 3 carbonos ligados ao anel (DURAN e PADILLA, 1993; BURNS et al., 2000).

A *C. sinensis* em sua constituição, possui altas concentrações de flavonoides, que são de extrema importância para o consumo humano. Para PUNYASIRI et al. (2004), a existência de um elevado nível de quantidades de antocianidina redutase, que é uma enzima responsável por acelerar as principais etapas para a produção das catequinas, evidencia ainda mais a presença de altas quantidades de flavonóides. No chá verde, as catequinas correspondem a 90% dos flavonóides presentes na planta, uma vez que na maioria das vezes 20 - 30% dessas catequinas estão em sua forma oxidada. Em geral, as catequinas representam cerca de 10-25% da massa seca das folhas jovens. Na figura 2, será mostrada a classificação dos sub grupos das catequina (C), epicatequina (EC), epicatequina galato (ECG), epigalocatequina (EGC), epigalocatequina galato (EGCG) e galocatequina-galato (GCG).

Figura 2 - Estruturas químicas de algumas catequinas presentes no chá verde.



FONTE: Autoria Própria, (2024)

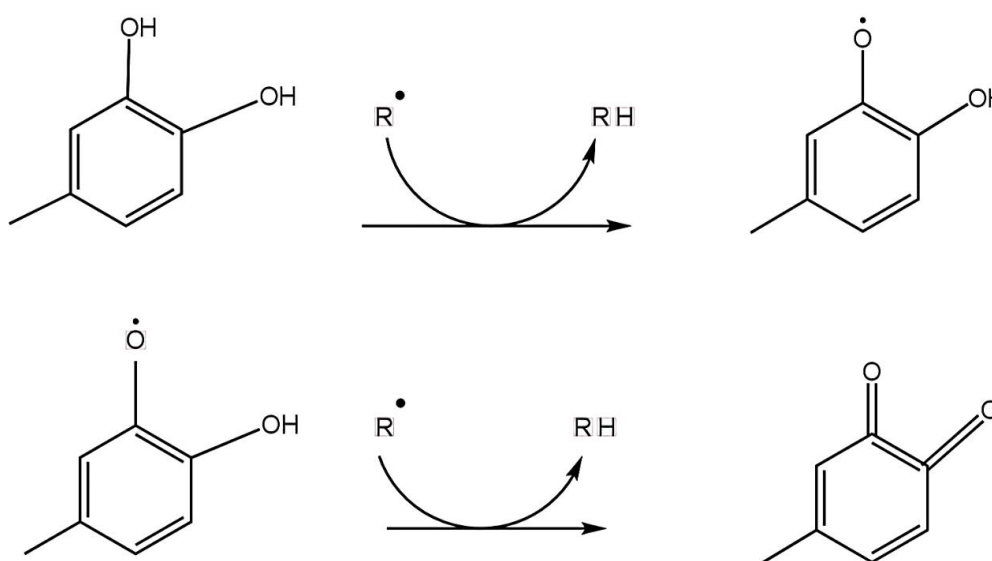
Segundo (LIMA et al., 2009), em seus estudos é possível encontrar mais ou menos cinco mil polifenóis conhecidos, sendo eles: flavonóides, fenóis, taninos, ligninas e tocoferóis, sendo estes um grupo de bioativos a base da alimentação da população em geral mais consumida. Além disso, os compostos fenólicos abrangem basicamente desde moléculas menos complexas até moléculas mais complexas em relação ao elevado nível de polimerização, podendo ser encontradas em vegetais soltos ou ligados à sacarose (açúcares) e proteínas (BRAVO, 1998).

Os flavonoides apresentam estruturas de dois anéis aromáticos, intitulados anéis x e y, ligados por três carbonos, formando um composto heterocíclico Z. O anel X é originado do ciclo acetato, já o y é originado da fenilalanina. As transformações em alteração do anel Z influenciam na formação em variados grupos de flavonóides, como: catequinas, flavonóis, flavonol e isoflavonas. Além disso, a troca dos anéis x e y pode resultar em diversos compostos de flavonoides. Sendo assim, essas

substituições podem incluir oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfação, (HOLLMAN et al., 1999).

De acordo com Rocha e Souza (2019), para que um composto fenólico seja denominado antioxidante, ele precisa apresentar duas condições. Primeiro, se presente em quantidade baixa de concentração em comparação ao substrato, o composto fenólico deve inibir a oxidação do substrato, culminando na construção das espécies radicalares. Caso ocorra a oxidação do substrato, o composto fenólico precisa transferir elétrons por meio das moléculas de hidrogênio para o substrato oxidado. O radical fenólico resultante deve ficar estável, na qual deve ganhar estabilidade através da ressonância, como é representado na figura 3.

Figura 3 - Mecanismo de eliminação de radicais livres pelos flavonóides e sua contribuição para a atividade antioxidante dos flavonoides.



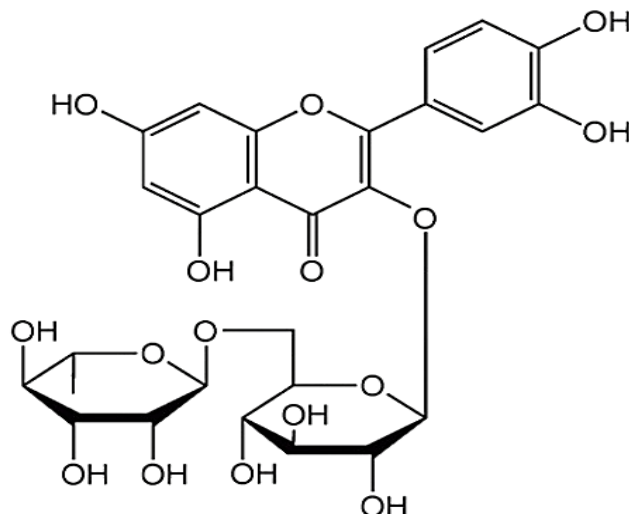
FONTE: Autoria própria (2024).

Os polifenóis são encontrados em plantas em decorrência do seu metabolismo secundário. Em contrapartida ao metabolismo primário, na qual utiliza nutrientes cruciais como carboidratos, proteínas e lipídios para a maturação da planta, o metabolismo secundário acaba sintetizando os compostos que não são essenciais. Dentre esses compostos, é possível relatar a presença de pigmentos que oferecem

coloração aos frutos e flores, atribuindo assim, as suas devidas características. Ainda que não sejam fundamentais para o desenvolvimento das plantas, os compostos fenólicos exercem uma importante contribuição na fisiologia vegetal. Este composto atua como um atrativo para a polinização, que são protetores que atuam contra o ataque de predadores, parasitas e patógenos (FALLER, 2008).

Quando presentes em vegetais, os compostos fenólicos podem ser encontrados na forma livre ou complexado em proteínas e açúcares. Destacando-se principalmente os flavonoides, os ácidos fenólicos e taninos, que basicamente são antioxidantes mais conhecidos de fontes naturais. Em meados do século XIX, Albert-Gyorgyi, um pesquisador Húngaro isolou uma substância originada da laranja. De maneira inicial, essa substância foi nomeadamente como vitamina P, contudo, após diversas pesquisas minuciosas, constatou-se que é um flavonoide, conhecido como Rutina, conforme representado na figura 4, (FLAMBÓ, 2013).

Figura 4 - Estrutura química da Rutina

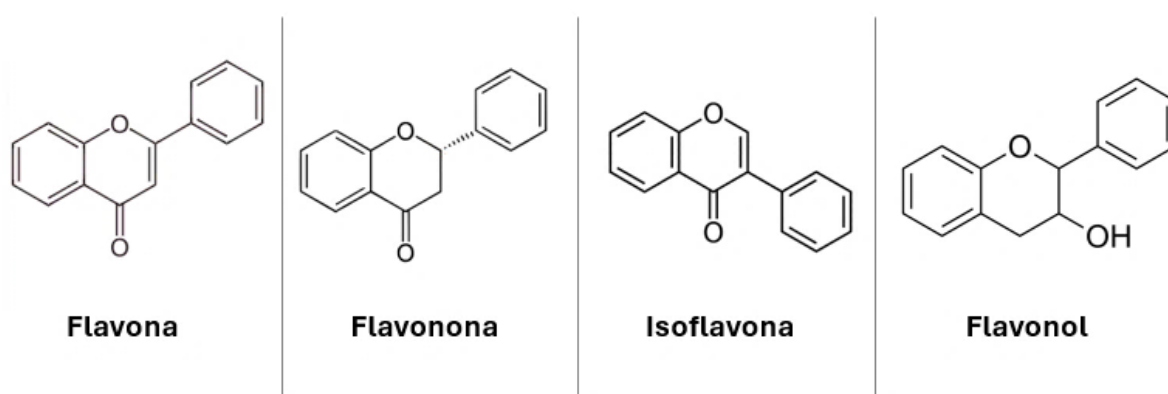


FONTE: Autoria própria (2024).

A rutina (Figura 4), desempenha funções essenciais no organismo. Entre suas propriedades e características é possível destacar os efeitos antihiperlipidêmicos (GHORBANI, 2017), como a redução significativa dos níveis de glicose, bem como o aumento da frequência de insulina. Esses efeitos foram demonstrados por Hosseinzadeh e Nassiri-Asl (2014) em estudos realizados com ratos hiperlipidêmicos.

Os flavonóides pertencem ao maior grupo dos polifenóis, sendo considerados um dos mais fundamentais compostos de proveniência animal. Corriqueiramente eles estão localizados em folhas, flores, raízes, variando a sua concentração em dependência de onde se encontra o órgão vegetal. A sua divisão pode ser exclusiva a certos tipos de alimentos, por exemplo as isoflavonas, que podem ser achadas na soja em alguns tipos de leguminosas. Já as isoflavonas, são típicas de frutas cítricas (ROSS, KASUM, 2002 in FALLER, 2008). Na figura 5, é mostrado algumas classes dos principais flavonoides.

Figura 5 - Classes principais de flavonoides.



FONTE: Autoria própria (2024).

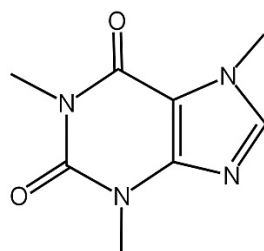
De acordo com Flambó (2013), os flavonoides fazem parte de um vasto grupo de substâncias químicas, na qual sua síntese não acontece no organismo humano. Além disso, os flavonoides contêm diversas características farmacológicas que auxiliam na sua ação nos sistemas biológicos, como também colaborando em prol da saúde humana. Esses flavonoides podem ser isolados com auxílio de algumas técnicas instrumentais como cromatografia em coluna e líquida de alta eficiência. Eles podem ser caracterizados por espectrometria de massas e ressonância nuclear, conforme citado pelo autor.

3.7 Cafeína

A cafeína, conhecida quimicamente como 1,3,7-trimetilxantina ($C_8H_{10}N_4O_2$), é um alcalóide classificado no grupo das metilxantinas (TOLEDO et al., 2017). Sua estrutura química é elucidada na figura 6. Este composto é um metabólito secundário,

que pode ser encontrado de forma natural em sementes, folhas e frutos de mais de 60 espécies vegetais ao redor do mundo (GEBEYEHU e BIKILA, 2015). Ele é habitualmente encontrado em alimentos como café, chá, chocolate (AQUINO et al., 2004), além de cacau, guaraná e noz-de-cola (TURNBULL et al., 2017).

Figura 6 - Estrutura química da cafeína (1,3,7-trimetilxantina).



FONTE: Autoria própria (2024).

A cafeína, além de ter sua origem natural, a mesma pode ser sintetizada artificialmente para consumo, como aditivo alimentar, em suplementos dietéticos e manipulações de remédios (TURNBULL et al., 2017), sendo um dos principais componentes presentes em analgésicos e relaxantes musculares (CLAUSEN et al., 2015). Na indústria alimentícia, a cafeína é utilizada na maioria das vezes como aromatizante para dar sabor e odor, especialmente em refrigerantes a base de cola (REYES et al., 2015).

Segundo (MARIA e GOMIDE, 2019), aproximadamente 80% da população mundial consome cafeína no seu cotidiano, sendo observados e analisados em todas as faixas etárias. Cientificamente, a cafeína é conhecida como a substância psicoativa mais consumida em todo o mundo, e os motivos para seu uso são diversos e variados. Entre as principais razões pelo seu consumo, é possível destacar o efeito estimulante que a cafeína tem sobre o sistema central nervoso, que age aumentando o estado de alerta, reduzindo o cansaço e melhorando a performance em certas atividades (GUERRA, BERNARDO e GUTIÉRREZ, 2000).

Na sua composição química, a cafeína possui propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e diuréticas. Normalmente, o consumo de cafeína está relacionado a efeitos benéficos, como um alto potencial de prevenção contra diabetes mellitus e doença de Parkinson. Todavia, o consumo exacerbado de cafeína (superior a 600 mg por dia pode estimular o surgimento de efeitos adversos como ansiedade, insônia, cefaleia (REYES et al., 2015). Além de problemas como arritmias, taquicardia,

elevação da pressão arterial e distúrbios gastrointestinais (SOUZA e SICHIERI, 2005). Ademais, há relatos na literatura que citam efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos atrelados ao seu uso.

4 Metodologia

4.1 Execução do trabalho

Os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Cromatografia (LabCrom) do curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), no campus CCI de Araguaína. Além disso, o projeto decorreu o período de 2023 a 2024. A metodologia empregada para esse manuscrito foi adaptada, devido à sua eficiência. Os procedimentos realizados para o isolamento da cafeína foram realizados conforme uma adaptação do método descrito por Onami (1996).

4.2 Obtenção e preparo das amostras

A amostra de chá verde foi adquirida de forma comercial, como podemos observar na figura 7.

Figura 7 - Chá verde utilizado para as infusões.



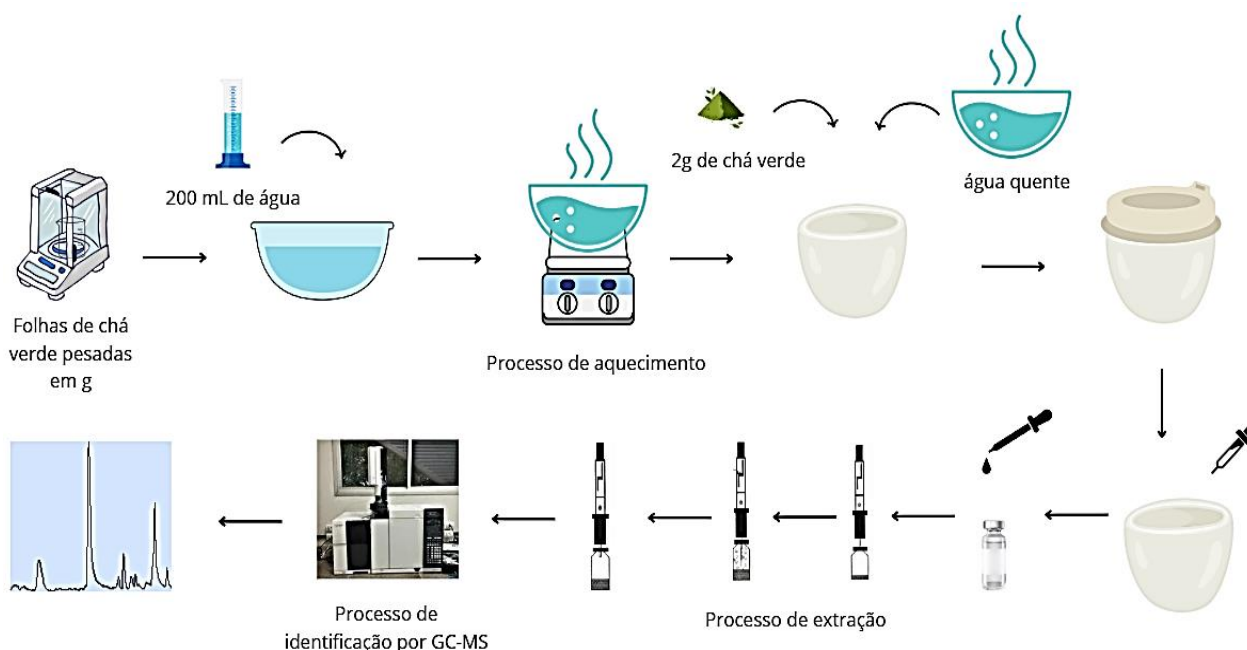
FONTE: Autoria própria (2024).

4.3 Extração dos compostos voláteis por HS-SPME

Para o preparo da amostra para o processo de extração por (HS-SPME), mediu-se 2g de folhas maceradas secas do chá verde (sachê) em um béquer 50 mL, utilizando-se uma balança analítica. Logo em seguida, colocaram-se as folhas

maceradas em uma xícara de cerâmica para dar início à realização da infusão. Em seguida, adicionou-se 200 mL de água mineral distribuídas em duas provetas de 100 mL dentro de uma vasilha. Após isso, iniciou-se o processo de fervura da água sobre a chapa de aquecimento. Logo em seguida, transferiram-se os 200 mL de água quente para a xícara cerâmica para dar início ao processo de infusão. Em seguida, após esperar o chá entrar em repouso, foram retiradas 4 alíquotas de 4 mL do chá já pronto, utilizando uma micropipeta. Após isso, pipetou-se as frações dos chás coletadas em um vial. Esse vial foi aquecido a uma temperatura de 90 °C para prosseguir com o processo de extração. Utilizou-se a fibra Azul PDMS/DVB, que foi exposta ao vial por um período de 30 minutos com a amostras, e após esse tempo foi retirada e, conseqüentemente, submetida à técnica de dessorção térmica direta, seguida por análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa em um equipamento Agilent 5977B GC/MSD”, conforme representado na figura 8.

Figura 8 - Diagrama da identificação dos compostos voláteis do chá verde.



Fonte: Autoria própria (2024). Usando o software CANVA (2024).

4.4 Análise via GC-MS

Utilizou-se um cromatógrafo a gás (Agilent Technologies) 7890B, acoplado ao espectrômetro de massas 5977B. O cromatógrafo foi operado utilizando uma coluna capilar HP-5MS (5%-phenyl)-methylpolysiloxane comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura de filme de 0,25 μm . O gás de arraste empregado foi o hélio (99.999%) como fase móvel a uma vazão de 1 mL/min. A injeção foi feita no modo splitless, a temperatura do injetor foi de 250 °C, a temperatura da fonte de íons foi de 230 °C, a temperatura do quadrupolo foi de 150 °C. O programa de temperatura do forno do GC foi definido inicialmente em 50°C por 1 min e aumentou em 10°C por minuto até 250°C, finalizando com uma isoterma de 3 min nesta temperatura. No total, as corridas duraram 24 minutos. Além disso, para otimização do processo de extração, o GC-MS foi operado em modo scan (m/z 40 a m/z 500). Os compostos orgânicos voláteis foram extraídos por headspace a 90 °C por 24 minutos e analisados em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas. O tempo de dessorção da fibra de SPME foi de 10 min. O procedimento foi realizado em triplicata, sendo que o padrão de *n*-alcanos(C10-C24) foi injetado nas mesmas condições cromatográficas das amostras.

Para a caracterização dos COV's (compostos voláteis) foi utilizado o software gilent, MSD ChemStation F.01.03.2357 para obtenção de cada pico. Os COVs foram identificados por meio da comparação de seus espectros de massas com os espectros existentes na literatura Adams (2007), bem como com os espectros do banco de dados (NIST2014) do equipamento, do NIST Web Book, que também foi usado para comparação dos índices de retenção (IR).

4.5 Chá preto comercial

O chá preto utilizado para o isolamento da cafeína foi adquirido em um supermercado da cidade de Araguaína, conforme ilustrado na figura 9.

Figura 9 - Chá preto utilizado para o isolamento da cafeína.

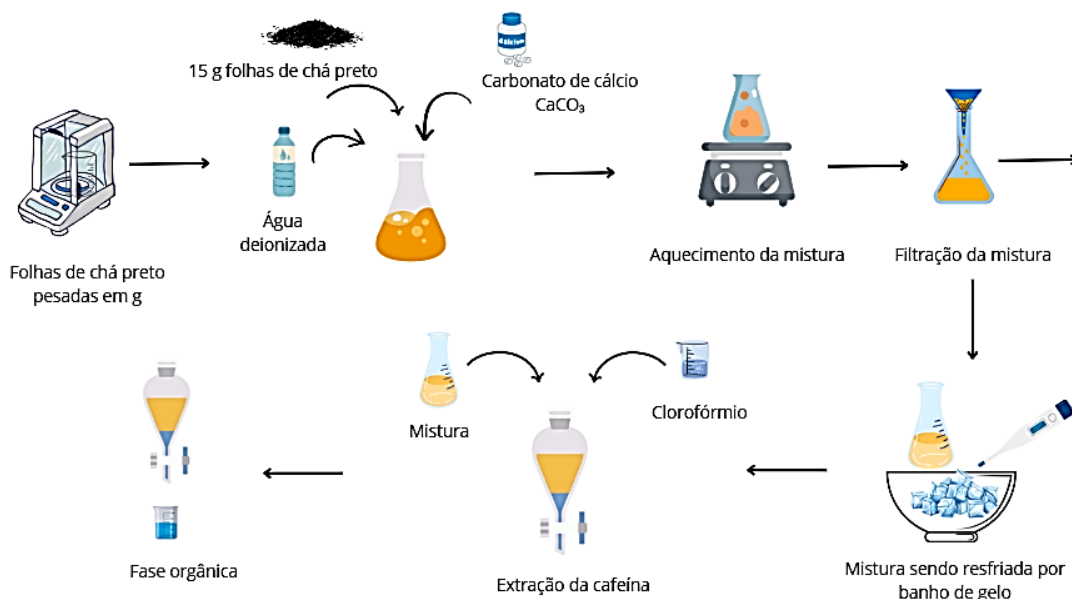


FONTE: Autoria própria (2024).

4.6 Isolamento da cafeína do chá preto

Para o isolamento da cafeína, foram pesados 15g do chá preto em um béquer de 100 mL. Logo após, em um Erlenmeyer de 250 mL, foram adicionados 15,0 g de chá preto, 150 mL de água deionizada e 7,0 g de carbonato de cálcio (CaCO_3), onde esse carbonato vai agir como uma base fraca, neutralizando os compostos fenólicos, liberando a cafeína para ser extraída pelo solvente orgânico. A mistura foi aquecida até a ebulição por um período de mais ou menos 20 minutos. Após o aquecimento, o líquido ainda quente foi submetido a um processo de filtração utilizando algodão como meio filtrante. Em seguida, o filtrado foi resfriado em banho de gelo, com a temperatura controlada entre 10 e 15 °C. Logo em seguida, para dar início à extração da cafeína, utilizou-se clorofórmio como solvente orgânico (CHCl_3). Após a filtração, o filtrado foi resfriado e transferido para um funil de separação, onde a cafeína foi extraída por partição líquido-líquido utilizando três porções de 20 mL de clorofórmio. Logo após adicionar cada porção de solvente orgânico, o funil foi fechado e agitado suavemente nas proximidades de uma capela de exaustão. Em seguida, aguardou-se a separação das fases, e coletou-se a fase orgânica inferior, rica em clorofórmio, em um frasco Erlenmeyer de 250 mL, conforme ilustrado na figura 10.

Figura 10 - Diagrama do isolamento da cafeína do chá preto.

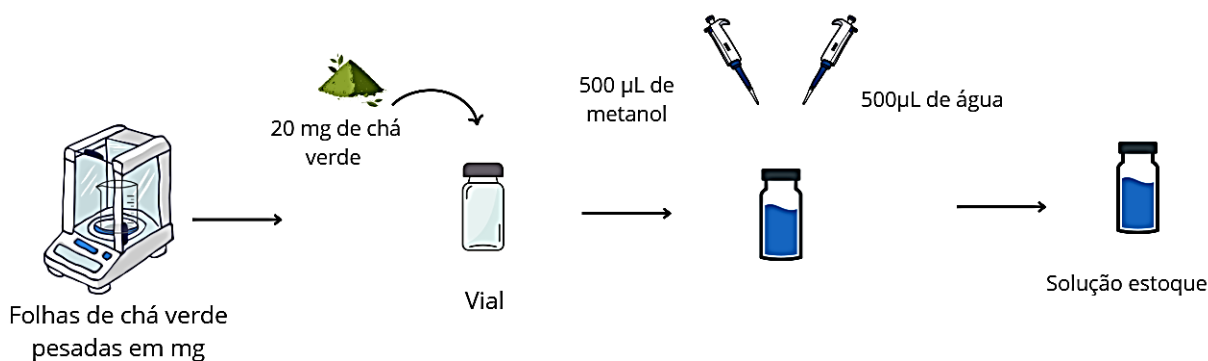


Fonte: Autoria própria (2024). Usando o software CANVA (2024).

4.7 Preparo da solução do extrato de chá verde com metanol/ água para identificação da cafeína

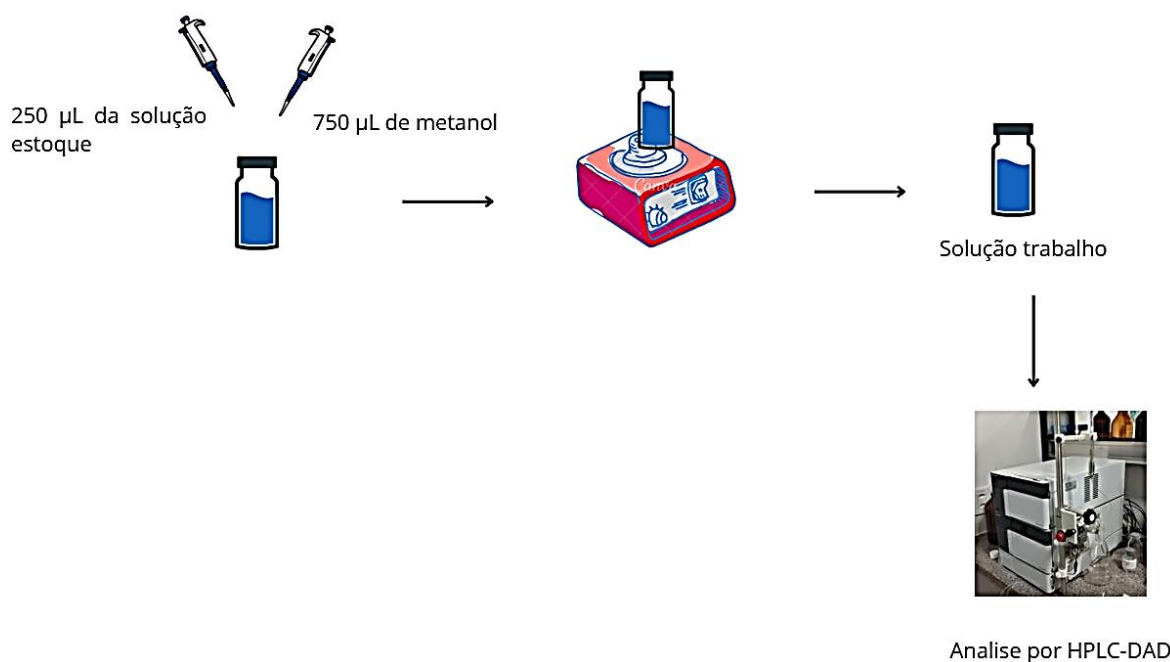
O chá verde foi analisado por HPLC-DAD. Inicialmente, preparou-se uma solução estoque com 20 mg de chá verde pesado no béquer 50 mL, utilizando-se uma balança analítica. Em seguida, colocaram-se os 20 mg do chá em um vial e dissolveram-se 500 μL de água destilada com auxílio de uma micropipeta. Logo em seguida, adicionou-se mais 500 μL de metanol, ilustrado na figura 11. Para o preparo da solução trabalho, pipetou-se 250 μL da solução estoque em um novo vial e logo após, adicionou-se 750 μL de metanol com auxílio de uma micropipeta, obtendo-se uma solução de 5 mg/mL. Após isso, utilizou-se um vortex para dissolver melhor a solução, conforme mostrado na figura 12. Após esse processo, as amostras foram guardadas e, posteriormente, injetadas e analisadas no HPLC-DAD, figura 12

Figura 11 - Diagrama do preparo da solução estoque do chá verde.



Fonte: autoria própria (2024). Usando o software CANVA (2024).

Figura 12 - Diagrama do preparo da solução trabalho de chá verde.



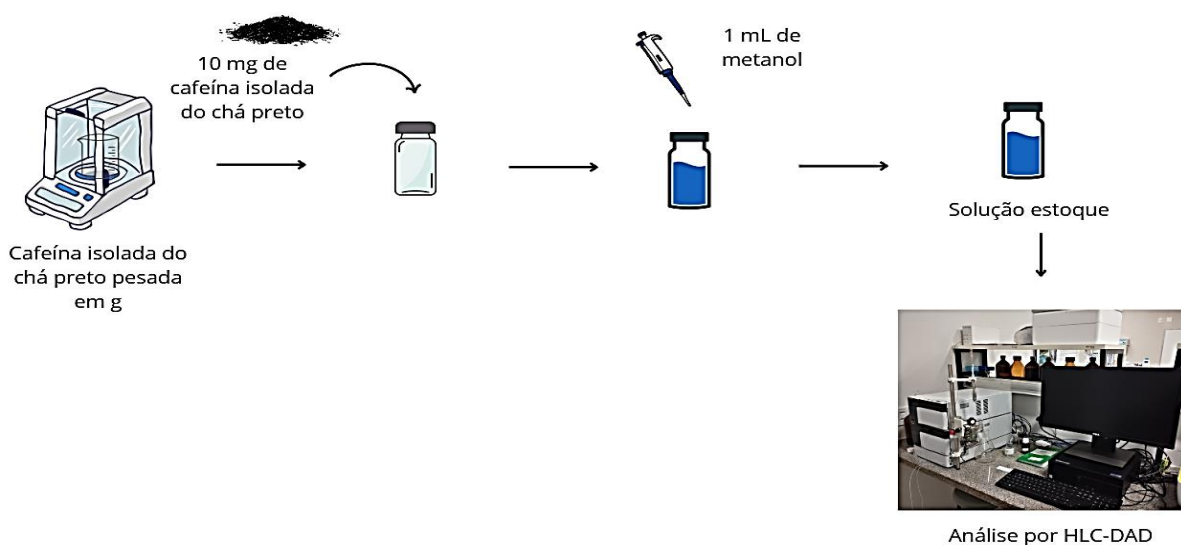
Fonte: Autoria própria (2024). Usando o software CANVA (2024).

4.8 Preparo da solução da cafeína isolada do chá preto com metanol/ água

A cafeína isolada do chá preto foi analisada por HPLC-DAD. Inicialmente foi preparada uma solução estoque a partir de 10 mg de cafeína pesada em um béquer de 50mL, utilizando-se uma balança analítica. Logo após, dissolveu-se a cafeína pesada em um vial. Em seguida, adicionou-se 1 mL de metanol/água (1:1) através de uma micropipeta, como ilustrado na figura 13. Para o preparo da solução trabalho,

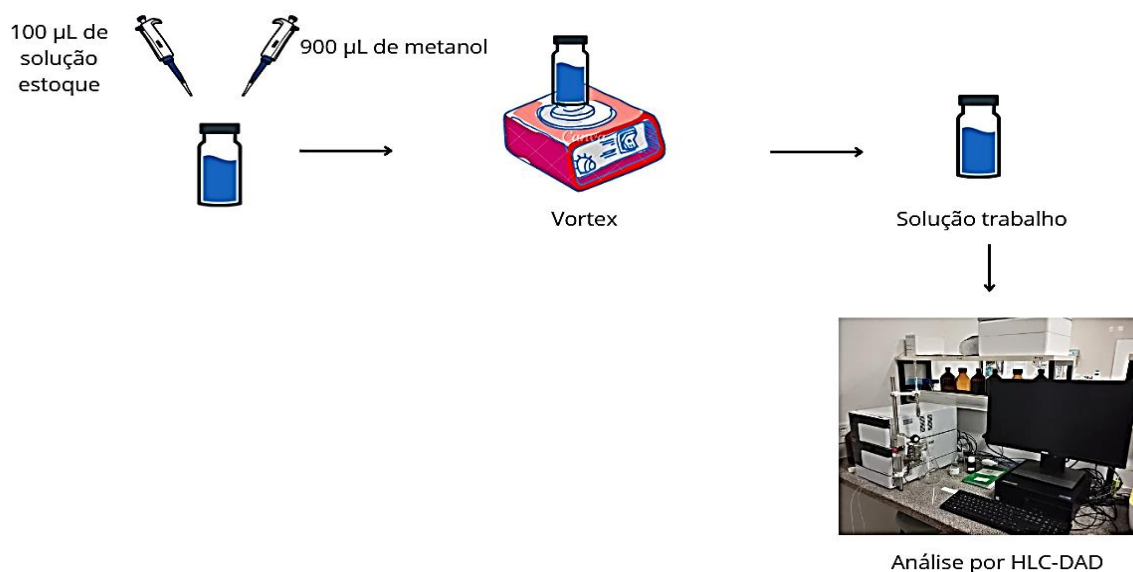
pipetou-se 100 μL da solução estoque em um novo vial e adicionou-se 900 μL de metanol/água (1:1), obtendo uma solução de 1 mg/mL. A mistura resultante foi homogeneizada utilizando um vortex para garantir a completa dissolução dos componentes, como representado na figura 14. Após isso, a solução foi injetada no HPLC-DAD para caracterização da cafeína.

Figura 13 - Diagrama do preparo da solução estoque da cafeína isolada.



Fonte: Autoria própria (2024). Usando o software CANVA (2024).

Figura 14 - Diagrama do preparo da solução trabalho.

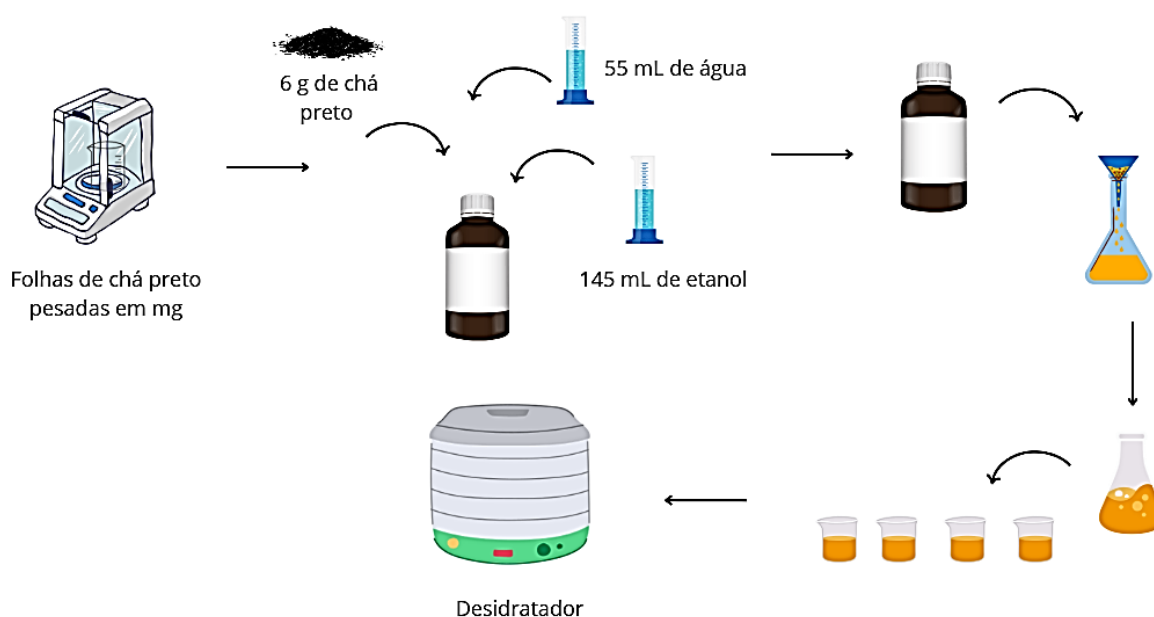


Fonte: Autoria própria (2024). Usando o software CANVA (2024).

4.9 Preparo da solução do extrato de chá preto com etanol/ água

Inicialmente, preparou-se uma um extrato hidroalcolico da solução de chá preto a partir de 6 g de chá preto medidos em um béquer, através de uma balança analítica. Logo em seguida, colocaram-se os 6 g das folhas maceradas do chá preto em um frasco, e logo em seguida foi dissolvido 145 μ L de etanol através de uma proveta de 100 mL, e completou-se com 55 mL de água. Após isso, o frasco foi rotulado e guardado durante um período de quinze dias. Após esse período, o extrato preparado foi filtrado com auxílio de um funil de separação no Erlenmeyer e, conseqüentemente, distribuídos em pequenos béqueres, como ilustrado na figura 15. Posteriormente, esses béqueres foram armazenados em um desidratador para prosseguir com as análises.

Figura 15 – Diagrama do preparo da solução do extrato de chá preto



Fonte: Autoria própria (2024). Usando o software CANVA (2024).

4.9.1 Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD)

Utilizou-se um cromatógrafo líquido Shimadzu 20AT, equipado com uma bomba SPDM20A, um desgaseificador de fase móvel DGU-20A5R, uma coluna Shim-pack VP-ODS C18 com dimensões de 150 L x 4,6, e um detector de arranjo de diodos (DAD) no modo varredura de 195 a 780 nm, composto por uma lâmpada de tungstênio

e de deutério (D2W). A fase móvel constitui-se por dois solventes, água deionizada e metanol grau HPLC 99,9%, com uma vazão de 1,00 mL/min, alternando de 5% a 50% de B nos primeiros 10 minutos, de 50% a 100% de B entre 10 e 30 minutos, mantendo a condição isocrática até mais ou menos 40 minutos, e retornando de 100% a 5% de B entre 40 e 45 minutos. O volume de injeção utilizado foi de 30 μ L.

4.9.1.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os Espectros FTIR-ATR em modo de transmissão de cada amostra foram registrados usando um equipamento Espectrómetro AGILENT CARY 630 atendendo à faixa entre 650 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} com a resolução de 2 cm^{-1} que está presente no Labcron Laboratório de Cromatografia da Universidade Federal do norte do Tocantins (UFNT), no Campus de Araguaína. Os espectros de infravermelho das amostras foram obtidos por inserção de cada amostras diretamente na pastilha de KBr do aparelho FTIR.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização dos compostos orgânicos voláteis

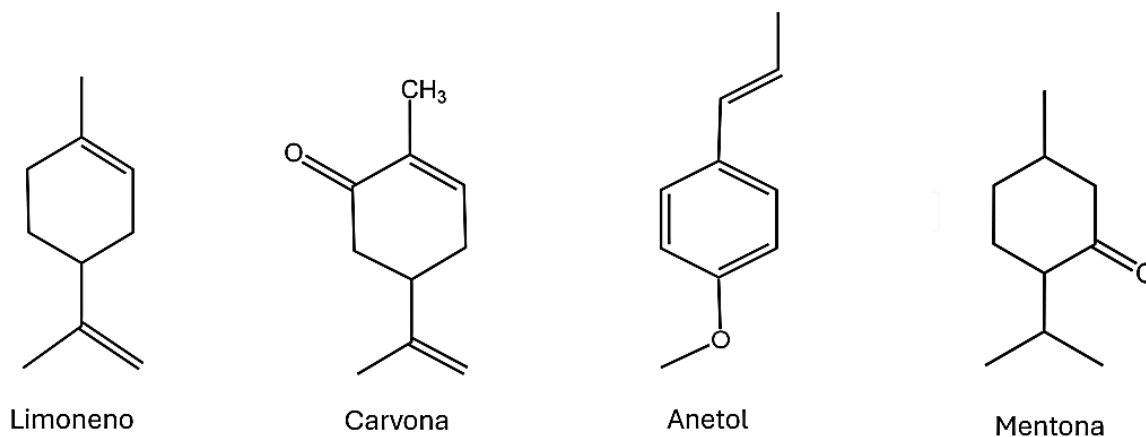
Na Tabela 1, estão listados os compostos químicos voláteis identificados através da técnica de microextração em fase sólida HS-SPME/GC-MS. Foram analisadas cerca de 3 replicatas da mesma amostra da infusão do chá, na qual foi feita uma média entre essas triplicatas, obtendo-se aproximadamente a presença de quinze compostos distintos de classes parecidas. Entre os compostos identificados, destacam-se aqueles pertencentes às classes dos terpenos, álcoois, aldeídos, cetonas e entre outros compostos. Na figura 17, serão mostradas algumas estruturas de alguns compostos identificados do chá verde.

Tabela 1. Constituintes químicos das folhas de chá verde identificados por HS-SPME/GCMS.

Nº	TR	Componentes	SI (%) ¹	IR ²	IR-lit ³	% área do pico ⁴	Referências ⁵
1	6.75	Limoneno	89,1	1033	1024	3,10	ADAMS,2007
2	7.88	Nonanal	87,5	1108	1100	4,73	ADAMS, 2007
3	8.65	Mentona	91,9	1161	1158	1,35	ADAMS,2007
4	8.91	Mentol	88,7	1178	1179	0,78	ADAMS, 2007
5	9.35	Decanal	88,2	1208	1201	3,86	ADAMS, 2007
6	9.64	(β)-cyclocitral	85,8	1228	1217	0,75	ADAMS, 2007
7	9.91	Pulegona	90,9	1247	1233	1,24	ADAMS, 2007
8	9.97	Carvona	94,6	1252	1253	7,16	TSIRI, 2003
9	10,62	Anetol	95,6	1295	1282	8,73	ADAMS, 2007
10	12.16	Dodecanal	87,3	1415	1408	0,62	ADAMS, 2007
11	12.43	(α)- ionona	91,1	1437	1228	2,26	ADAMS, 2007
12	12,70	Geranil acetona	89,7	1458	1453	1,77	ADAMS, 2007
13	12.94	Dodecanol	92,8	1477	1477	3,47	ADAMS, 2007
14	13.17	(β)- Ionona	91,1	1495	1487	8,79	ADAMS, 2007
15	15.69	Heptadecano	86,1	1711	1711	0,41	ADAMS, 2007

TR= Tempo de retenção; 1= Índice de similaridade com base no R. Match; 2 = Índice de retenção experimental; 3 = Índice de retenção da literatura (ADAMS, 2007); 4 = Área percentual estimada pela normalização das áreas; 5= Referências bibliográficas.

Figura 16 - estruturas químicas de alguns compostos presentes no chá verde.



Fonte: Autoria própria (2024).

A formação de compostos voláteis a partir de chás é totalmente influenciada por reações enzimáticas e não enzimáticas, que podem ser subdivididas em dois grupos. O primeiro grupo corresponde à ação de lipases sobre ácidos graxos insaturados das membranas celulares, que podem acabar gerando compostos indesejáveis. O segundo grupo, ocorre a oxidação de carotenoides catalisada por enzimas resultantes em compostos com aroma agradável, como, por exemplo, a β -

ionona identificada em nosso trabalho na tabela 1. Sendo assim, a composição final dos compostos voláteis é influenciada por fatores como a variedade do chá, as suas condições de processamento, como também o tempo de armazenamento. Além disso, os aminoácidos são extremamente importantes para a formação de aldeídos, que em sua grande maioria são oxidados em ácidos graxos (RAVICHANDRAN; PARTHIBAN, 1998, 2000; RAVICHANDRAN, 2002).

Um dos compostos identificados nesta análise foram os terpenos. Os terpenos fazem parte de uma grande classe de substâncias vegetais, sendo os monoterpenos e sesquiterpenos os mais comuns. Esse composto é basicamente responsável por desempenhar uma função importantíssima em relação ao perfil sensorial do chá. Os terpenos podem estar relacionados a diversas fragrâncias, tornando-os amplamente usados para fazer perfumes e aromatizantes (Bauer, Garbe e Surburg, 2001). De acordo com (UENOJO et al., 2007), a alta sensibilidade da técnica HS-PME é capaz de permitir a identificação de um alto número de compostos que fazem parte da classe dos terpenos.

No seu estudo, LIN et al. (2012), por meio de uma análise química, descreveram que os terpenos presentes no chá Longjing são um importante composto químico que contribuem para o aroma das plantas. Os autores ainda relataram que o composto volátil nonanal, identificado em nossas amostras, pode ser denominado como composto aroma-ativo, que por consequência contribui para os odores florais nas infusões de chá verde. Além disso, essa substância é considerada um composto aromático-chave, pois é responsável pela qualidade sensorial do produto.

Os aldeídos foram o outro grupo identificado em alta escala neste trabalho, como nonanal e decanal. Para Yang et al. (2018), os aldeídos são originados basicamente da degradação oxidativa térmica de ácidos graxos e aminoácidos, exercendo uma função extremamente importante em relação ao odor presente nas folhas das plantas. O decanal, que se encontra presente neste trabalho, é tipicamente conhecido como um aromatizante doce encontrado em diversas plantas.

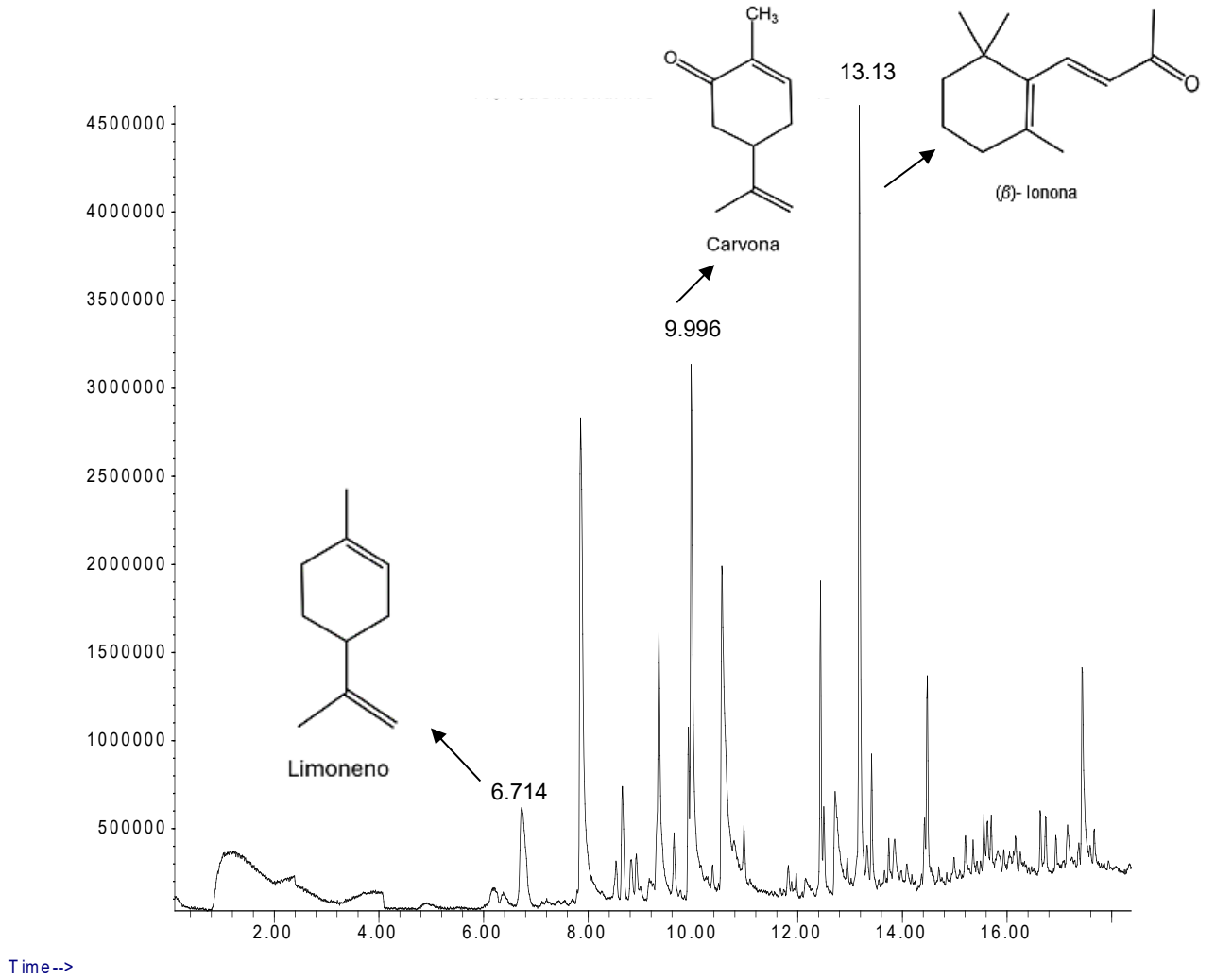
A α -ionona foi encontrada neste trabalho, formada pela oxidação dos carotenoides, podendo ter seu aumento rapidamente durante o período de armazenamento do chá verde. Além disso, a α -ionona apresenta um aroma amadeirado, similar ao violeta, encontrado constantemente em chás verdes japoneses (LEE et al., 2013). Os carotenoides apresentam influência significativa dos compostos

voláteis do chá, principalmente em aromas de carbonos C9 a C13 uma vez que a α -ionona é um composto derivado de carotenoides de carbonos C13. O limoneno foi outro composto orgânico identificado em nossa análise, esse composto apresenta aromas de terebintina e limão, sendo que a proporção única de enantiômeros presentes nos limonenos é utilizada para identificar um dos chás Longjing (Zhu J, 2021). Além disso, alguns terpenos como o próprio limoneno, apresentam ação antimicrobiana, sendo bastante usado como material de síntese de produtos comerciais, como, por exemplo, carvona e mentol, (CARVALHO E FONSECA, 2006).

A carvona foi um monoterpeneo que também foi identificado em nossas análises. Este monoterpeneo faz parte do grupo químico das cetonas cíclicas, possuindo um carbono assimétrico, sendo seu carbono 4 do anel ligado o isopropenil. Além disso, a carvona pode ser encontrado de forma majoritária em óleos essenciais de variadas plantas, (COSTA, et al,2012). Estudos recentes mostram que este monoterpeneo age no sistema nervoso bem como apresenta atividade antibacteriana, ação anticonvulsante, citotoxicidade contra células cancerígenas e propriedades antifúngicas, (GONDO, 2012).

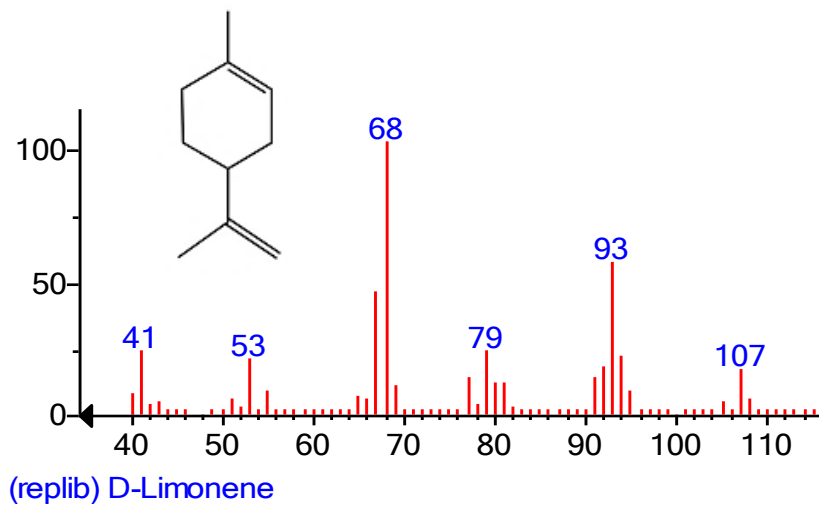
Nas páginas subsequentes, serão exibidos alguns espectros de massas dos compostos discutidos anteriormente como: limoneno, (α)- ionona e anetol. Bem como, será mostrado comparação entre os espectros de massas do Banco de dados da NIST2014 com os espectros de massas experimental do software Data Analysis. Será mostrado também um cromatograma de íons totais dos voláteis das folhas de chá verde por HS-SPME/GC-MS, conforme mostrado na figura 17.

Figura 17 - Cromatograma de íons totais dos voláteis das folhas de chá verde por HS-SPME/GC-MS.



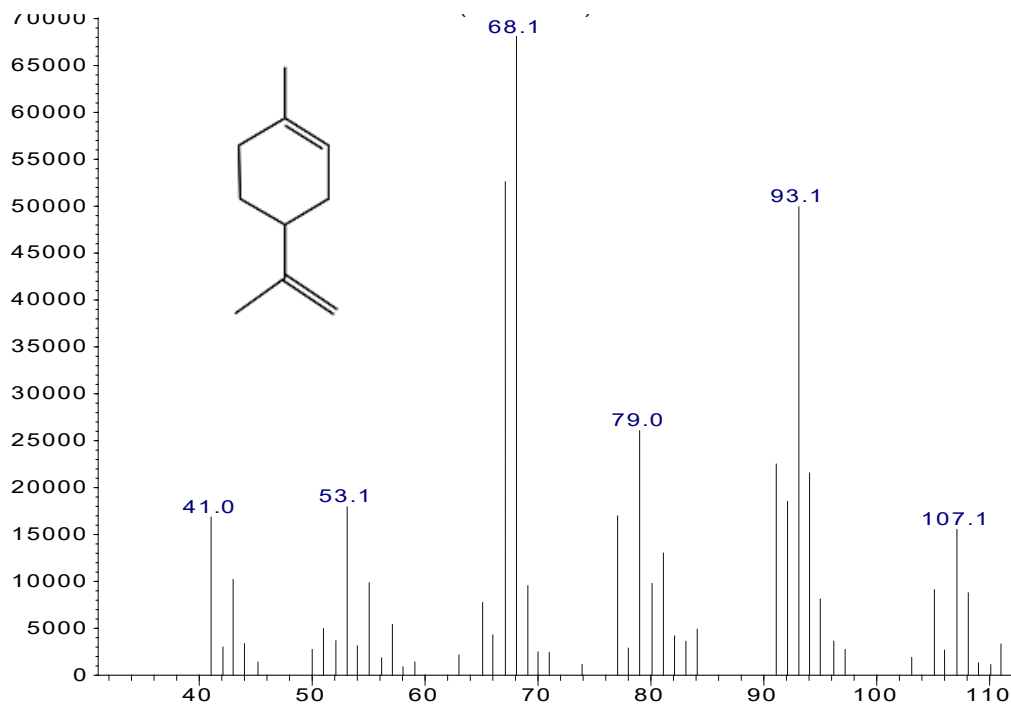
FONTE: Autoria própria (2024).

Figura 18 - Espectro de massas da biblioteca do software para o Limoneno.

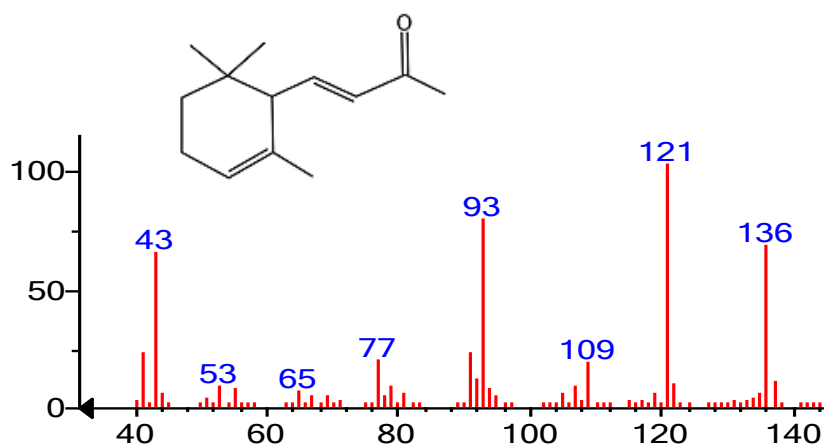


FONTE: Banco de dados da NIST2014 (2024).

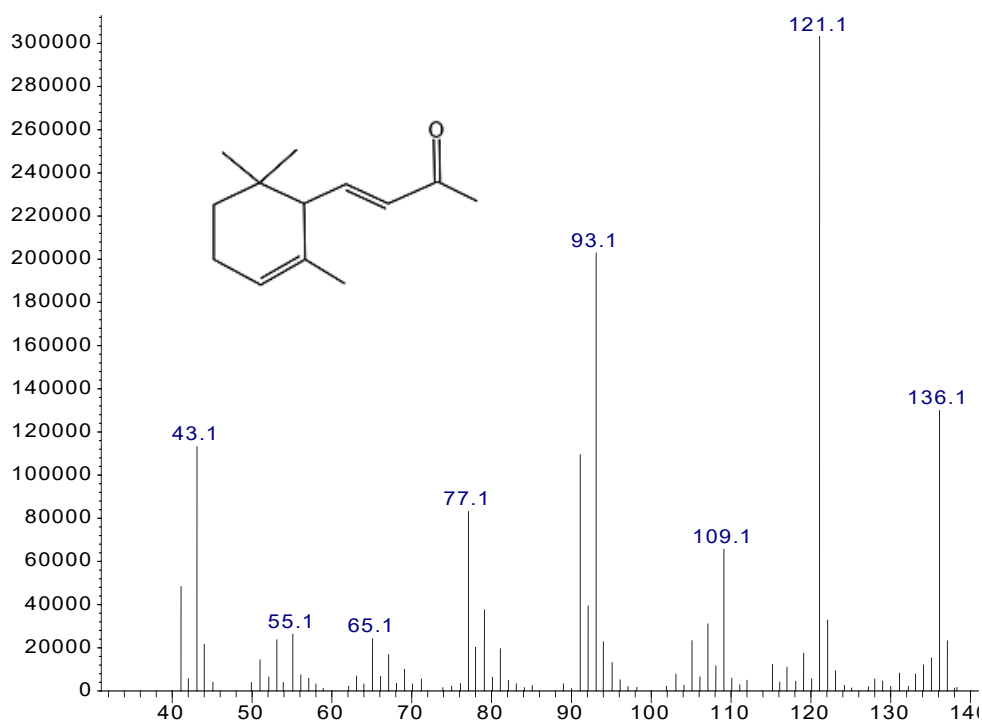
Figura 19 - Espectro de massas do Limoneno



FONTE: Data Analysis, (2024).

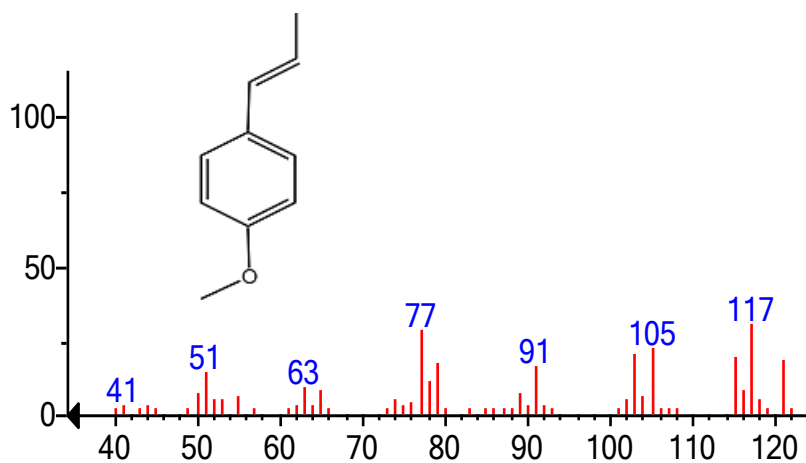
Figura 20 - Espectro de massas da biblioteca do software para a (α)- ionona.

FONTE: Banco de dados da NIST2014 (2024).

Figura 21 - Espectro de massas do (α)- ionona

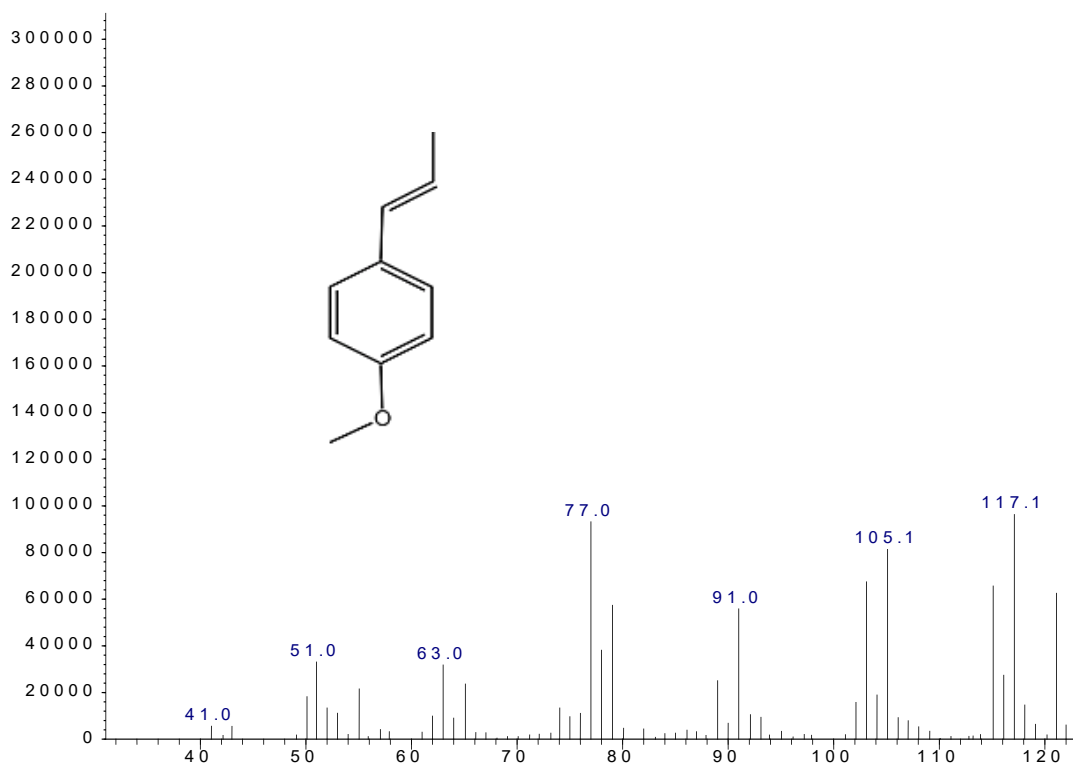
FONTE: Data Analysis, (2024).

Figura 22 - Espectro de massas da biblioteca do software para o Anetol.



FONTE: Banco de dados da NIST2014 (2024).

Figura 23 - Espectro de massas do Anetol.

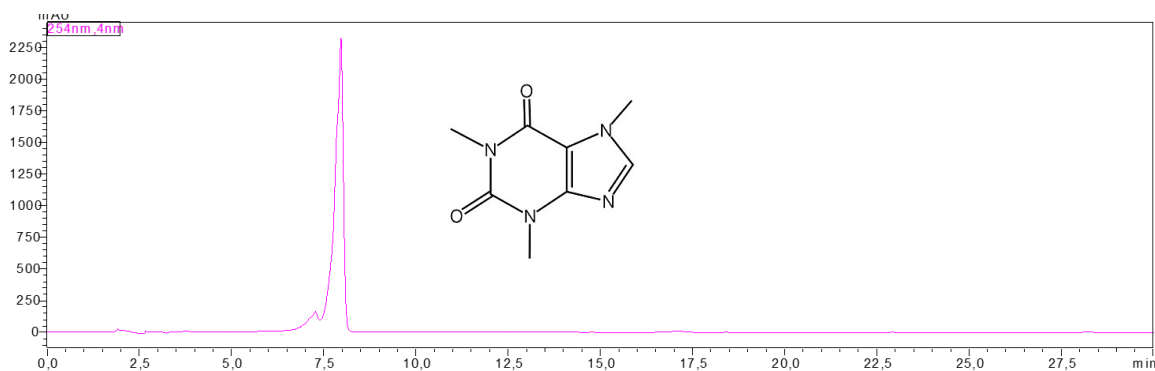


FONTE: Data Analysis, (2024).

5.2 Análise por HPLC-DAD

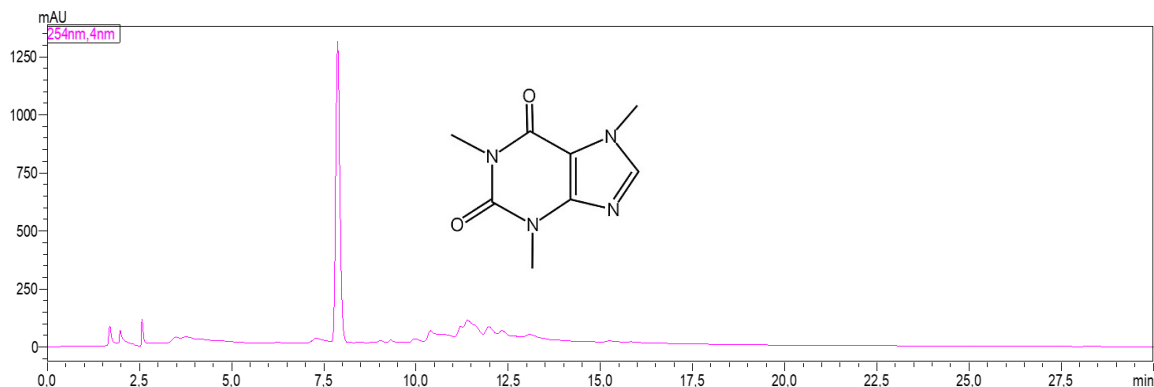
Os cromatogramas das figuras 24 e 25 foram satisfatórios em caracterizar a cafeína presente no extrato de chá verde e cafeína isolada do chá preto. As análises confirmaram a presença de cafeína no chá verde.

Figura 24 - Cromatograma HPLC da cafeína isolada do chá preto extraído em 254 nm.



FONTE: Autoria própria (2024).

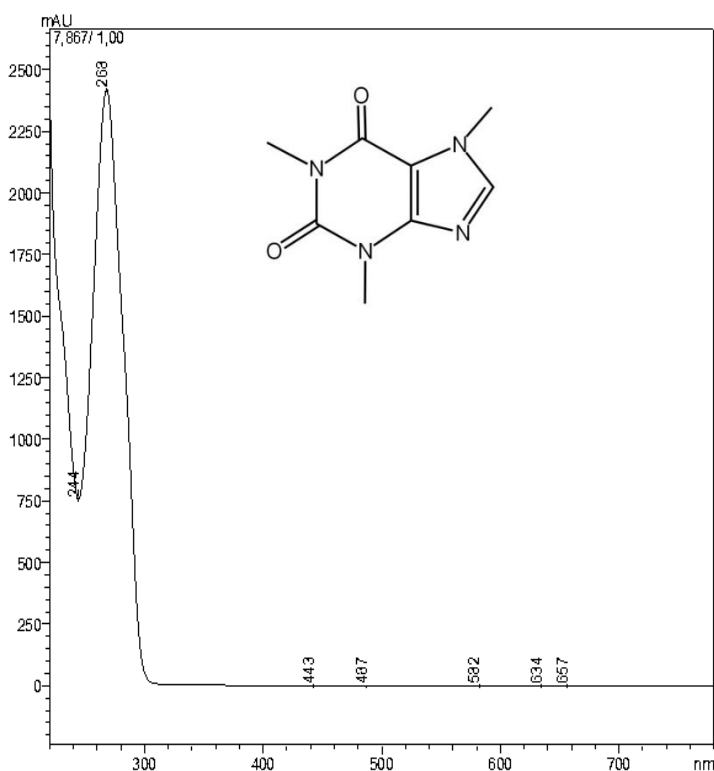
Figura 25 - Cromatograma HPLC do extrato de chá verde extraído em 254 nm.



FONTE: Autoria própria (2024).

Tanto no cromatograma da figura 24, quanto no cromatograma da figura 25, é possível observar a eluição da cafeína no início do perfil cromatográfico. E esse comportamento pode estar atrelado à sua baixa retenção na fase estacionária no equipamento, uma vez que, a cafeína possui características de polaridade parcialmente alta. Em sistemas cromatográficos que utilizam uma fase estacionária apolar, como as colunas de C18, como (HPLC), os compostos com elevada polaridade apresentam uma menor interação com a fase estacionária. Assim, esses compostos caracterizados são eluídos de maneira mais rápida, que por consequência levam à detecção da cafeína em posições iniciais do cromatograma, conforme representado nos cromatogramas das figuras 24 e 25.

Figura 26 – Espectro UV da cafeína do extrato de chá verde.

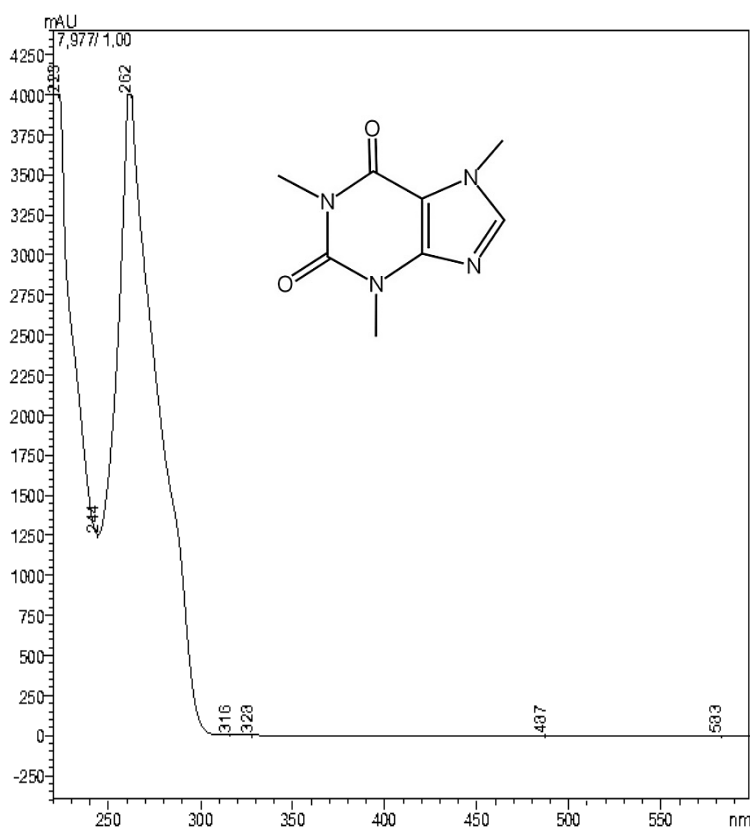


FONTE: Autoria própria (2024).

O espectro de absorção característico da cafeína é mostrado nas figuras 26 e 27. Foi possível detectar duas bandas, sendo a primeira banda mais acentuada em 268 nm e a segunda em 262. Sendo em 272 nm a absorção mais utilizada segundo a literatura (MARIANO, 2018).

Por análise comparativa, dos espectros UV da cafeína das figuras 26 e 27, é possível observar que não houve alteração, apresentando seus picos máximos de absorção em 262 e 268 nm respectivamente, mostrando similaridades em seus perfis espectrais. A absorção de radiação eletromagnética na região do ultravioleta da cafeína, conforme descrito por Holiday (1930), deve apresentar pico máximo de absorção em comprimentos de onda que variam entre 271 nm a 275 nm. Sendo que esse comportamento é bastante parecido com os espectros UV mostrados nas figuras 26 e 27, onde a cafeína é mais absorvida.

Figura 27 – Espectro UV da cafeína pura isolada do chá preto.



Fonte: Autoria própria (2024).

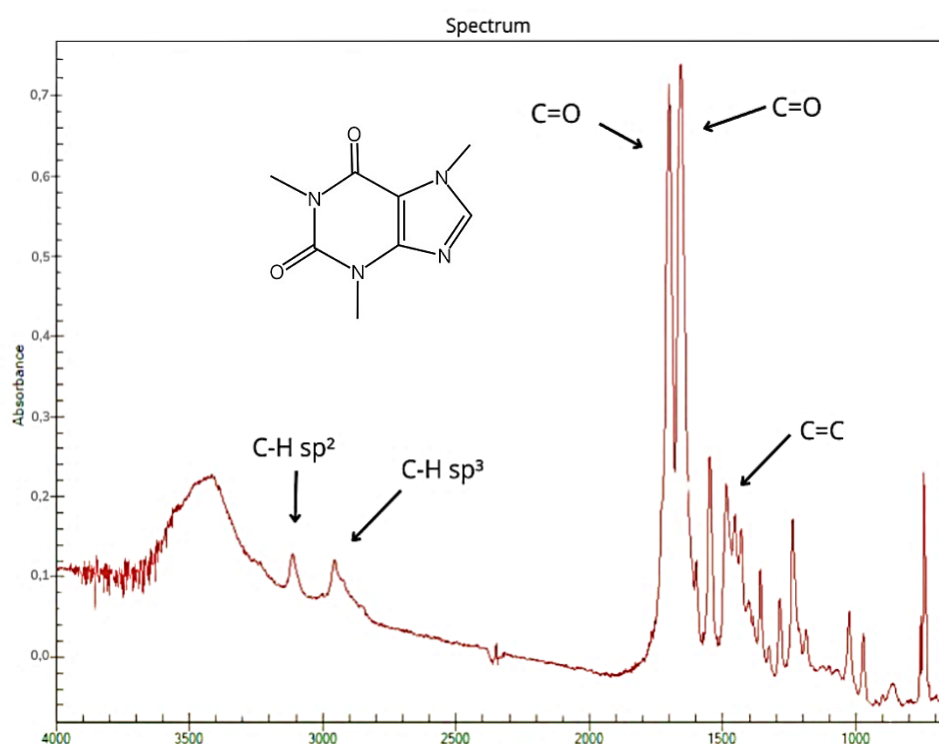
As bandas observadas em de 250 e 272 nm da figura 27 podem estar correlacionadas com as transições eletrônicas dos orbitais preenchidos para níveis não ocupados, como " $n \rightarrow \sigma^*$ ", " $\pi \rightarrow \pi^*$ " e " $n \rightarrow \pi^*$ " (PAVIA et al., 2015).

Além disso, é importante destacar a presença de substâncias que contêm boa absorção nos comprimentos de onda analisadas nos espectros de ultravioleta (UV), principalmente a presença de cromóforos, como relatado por Pavia et al (2015, p. 565). Nos espectros de UV analisados, é possível observar que alguns compostos foram absorvidos acima de 220 nm (figura 26), podendo estar relacionado com a presença de grupos orgânicos fortes, como carbonilas, duplas conjugadas, aminas e, provavelmente, compostos fenólicos, como flavonóides.

5.3 Análise por FTIR

A caracterização da cafeína isolada, conforme ilustrado na figura 28, teve um espectro de IV satisfatório. Sendo que o estiramento na faixa de 2924 cm^{-1} de CH sp^3 (destacado pela seta preta) e o estiramento assimétrico forte em 1695 cm^{-1} de C=O (destacado pela seta preta).

Figura 28 - Espectro IV da cafeína isolada.



FONTE: Autoria própria (2024).

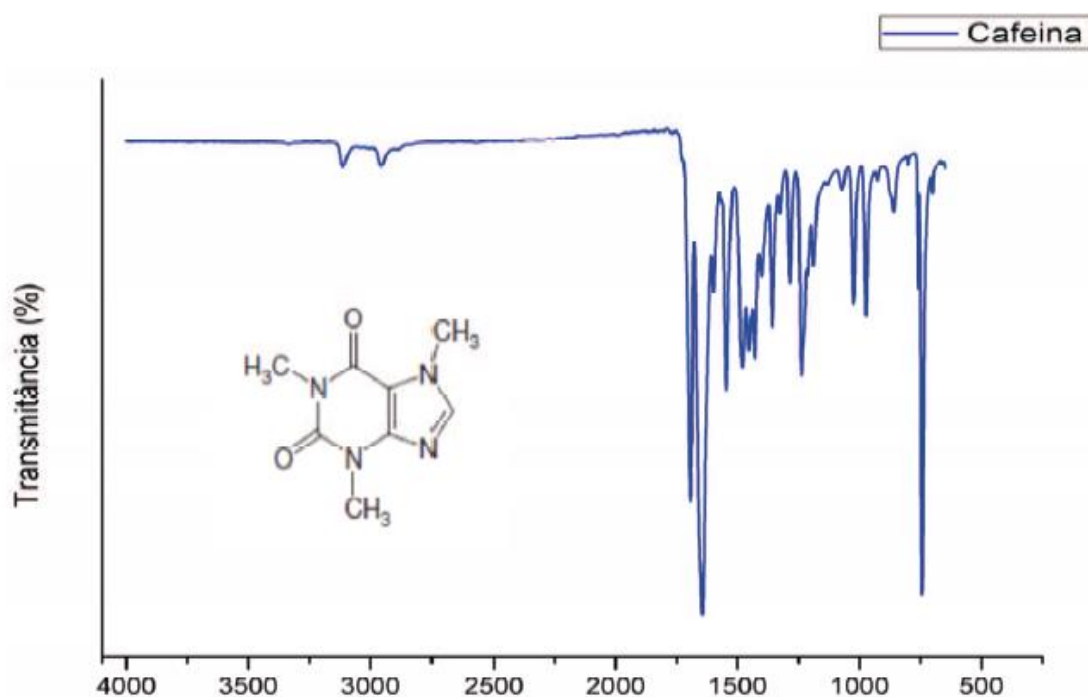
No pico forte, em 1650 cm^{-1} e 1649 cm^{-1} referem-se à amida a um estiramento de amida terciária, compreendendo uma faixa de 1700 cm^{-1} a 1600 cm^{-1} . Os picos localizados em 1695 cm^{-1} e 1692 cm^{-1} de pico intenso, correspondem ao estiramento do grupo carbonila (C=O). Já os picos de 1547 cm^{-1} e 1545 cm^{-1} , que apresentam banda fraca, correspondem a uma deformação angular da ligação C=N . Já a baixa intensidade na banda 1500 cm^{-1} , pode ser explicada pelas ligações C=C , por serem encontradas em anéis heterocíclicos, (AZEVEDO, 2015; LOPES, 2004; PAVIA, 2010; USP, 2019).

Picos de baixa intensidade, localizados em 1357 cm^{-1} , caracterizam-se como aminas, bem como os picos fracos em 1285 cm^{-1} e 1284 cm^{-1} . Em 972 cm^{-1} , registra-se a deformação angular fora do plano da ligação C=C . Enquanto, em 744 cm^{-1} e 742

cm^{-1} , diz respeito às vibrações de dobramento fora do plano do grupo C-H. Pequenos picos na região de 2977 cm^{-1} estabelecem a vibração da ligação (C-H) e, perto de 2920 cm^{-1} , refere-se às vibrações assimétricas do carbono sp^3 do grupo metila (CH_3) (ALENCAR, 2016; AZEVEDO, 2015; LOPES, 2004; PAVIA, 2010; USP, 2019).

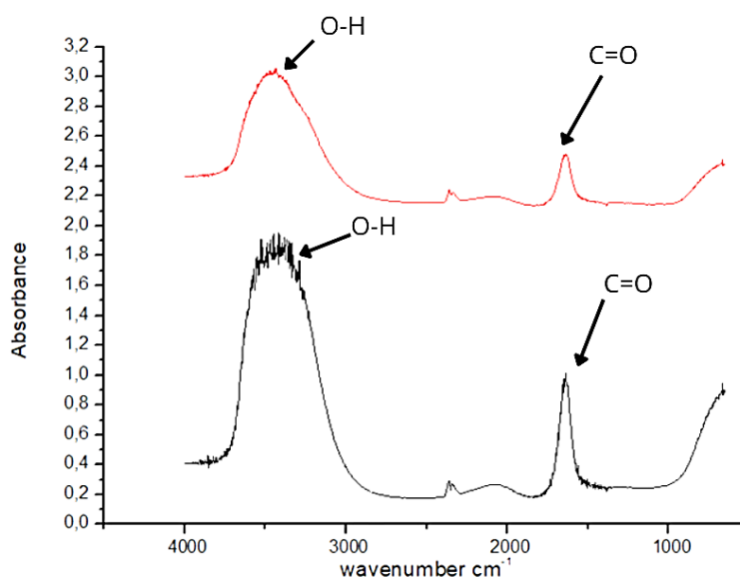
Além disso, se compararmos os espectros da cafeína (figura 28) isolada com o de Alencar (2016) da cafeína monoidratada das (figura 29), é possível observar que ambos os espectros são bem similares, apresentando bandas parecidas e picos em regiões próximas, além da presença de grupos funcionais. Os picos encontrados e observados na faixa de 1695 cm^{-1} e 1692 cm^{-1} , estão associados ao estiramento da carbonila (C=O). A banda de baixa intensidade localizada próxima a 1500 cm^{-1} , no caso 1480 cm^{-1} , refere-se as ligações C=C presente em compostos orgânicos cíclicos. O pico localizado em 2920 cm^{-1} , está associado às vibrações assimétricas do carbono sp^3 do grupo metila (CH_3), ALENCAR, 2016, PAVIA, 2010; USP, 2019).

Figura 29 – Espectro de FTIR da cafeína monoidratada.



FONTE: ALENCAR, (2016)

Figura 30 - Espectro IV para o extrato de chá verde (vermelho) e de chá preto (preto).



Fonte: Autoria própria (2024). Utilizando o software origin.

Ao analisar e comparar ambos os espectros da figura 30, percebe-se um perfil muito semelhante de ambos os espectros, apresentando picos semelhantes em regiões bastante próximas. Isso é devido ambos os chás serem provenientes da mesma planta. No entanto, a intensidade de algumas bandas varia em seus espectros, principalmente na banda do O-H localizada em 3200 e 3600 cm^{-1} , onde a banda do chá preto é mais intensa do que a do chá verde, podendo ser associado ao processo de oxidação ser maior no chá preto.

Além disso, esse comportamento pode estar associado ao conteúdo dos compostos presentes em cada chá, que influencia potencialmente na composição química final, uma vez que o chá preto e o chá verde são processados de formas parcialmente distintas. Nos seus processamentos podem ocasionar a oxidação de alguns compostos, bem como a formação de novos compostos, alterando o perfil químico e espectral.

A vibração da ligação O-H, representada por um grupo hidroxila, gera uma banda característica no espectro, geralmente na região entre 3200 e 3600 cm^{-1} em ambos os espectros, e isso está associado à presença de compostos fenólicos em ambos os chás. As bandas localizadas em 1650-1750 cm^{-1} , podem estar associadas

à presença do grupo C=O (carbonilas) presente em ambos os chás, conforme ilustrado na figura 27.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento deste trabalho levou à identificação dos compostos voláteis a partir da planta *Camellia sinensis*, as quais contêm diversos compostos que apresentam atividades antioxidantes, bem como influenciam no odor e cheiro da planta. Além da identificação desses compostos, foi possível também, caracterizar a cafeína isolada do chá preto e da cafeína presente no chá verde.

Em relação às técnicas utilizadas para caracterização química, o HS-SPME/GC-MS permitiu a identificação de diversos compostos voláteis, principalmente o grupo dos terpenóides (monoterpenos e monoterpenos oxigenados), alceno, álcoois, aldeídos e cetona. O FTIR mostrou resultados promissores em identificar a presença de grupos funcionais, bem como a similaridade das bandas dos espectros em relação aos grupos funcionais presentes tanto no extrato de chá verde quanto no extrato de chá preto. Em relação ao HPLC-DAD, esta técnica demonstrou resultados e parâmetros parecidos com a da literatura em relação à caracterização, detecção e absorção da cafeína, devido à sua seletividade e alta eficiência.

Ademais, esta pesquisa se pautou em métodos simples e baratos em relação ao processo de identificação e caracterização dos compostos citados neste trabalho, sendo que futuramente, a mesma possa ser explorada e utilizada para a caracterizar e elucidar outros compostos de interesse.

7 REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Allured: Carol Stream, p. 804, 2007
- ADCOCKS, C.; COLLIN, P.; BUTLLE, D.J. Catechins from green tea (*Camellia sinensis*) inhibit bovine and human cartilage proteoglycan and type II collagen degradation in vitro. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, n. 132, p. 341-6, 2002.
- ALENCAR, L. C. B. **Estudo de Compatibilidade entre Cafeína, Dipirona e Citrato de Orfenadrina**. 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.
- ANESINI, C.; FERRARO, G.E.; FILIP, R. **Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina**. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, v.56, p.9225–9229, 2008.
- ANNELLI, C. L.; PEREIRA T. B.; DE OLIVEIRA L. C. N.; BERNARDO D. N. D.; GRIGOLETO B. M. Fat, Reduction of Body. Efeitos funcionais das catequinas do chá verde na redução de gordura corporal. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v.37, n.2, p. 46-51, Maio/Agosto, 2016.
- AQUINO, F.W.B.; AMORIM, A.G.N.; PRATA, L.F.; NASCIMENTO, R.F. **Determinação de aditivos, aldeídos furânicos, açúcares e cafeína em bebidas por cromatografia líquida de alta eficiência: validação de metodologias**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 24, n. 1, p. 32- 38, 2004.
- AZAN, A.; HADI, N.; KHAN, N.U.; HADI, S.M. Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties. **Toxicology in Vitro**, v.18, p.555-61, 2004.
- AZEVEDO, L. A. De Biomateriais a Supramoléculas Teranósticas: **A Inovação Terapêutica Destinada a Proteger, Transportar e Entregar Moléculas Bioativas de Forma Planejada**. 2015. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais) - Centro de Ciências Exatas e da Natureza da UFPB, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015. Disponível em: Acesso em: 27. out. 2019.
- BAUER, K.; GARBE, D.; SURBURG, H. **Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation and Uses**, 2nd ed. VCH., New York. 1990
- BOWN, D. **Encyclopedia of Herbs and their uses**. New York: DK, p.99, 1995.
- BURNS, J.;GARDNER, P. T.;O'NEIL, J.; CRAWFORD, S.;MORECROFT, I.; McPHAIL, Donald B.; LISTER, C.; MATTHEWS, D.; MacLEAN, M. R.; LEAN, M. E. J.;DUTHIE, G.G.; CROZIER, A. Relationship among antioxidant activity, vasodilatation capacity, and phenolics content of red wines. *Journal of Agriculture Food Chemical*, v.48, n.2, p.220-30, 2000.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition**, v.56, n.11, p.317-333, 1988.

BRENELLI, E.C.S. A extração de cafeína em bebidas estimulantes – uma nova abordagem para um experimento clássico em química orgânica. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p.136-138, 2003.

BRUNETON, J. **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants**. Paris: Lavoisier, p.885, 1996.

CABRERA, C., GIMENEZ, R., & LOPEZ, M.C. **Determination of tea components with antioxidant activity**. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.51, p.4427–4435, 2003.

CAMPBELL, A. P. Time for tea? **Diabetes Self-Management**, [Long Island City], v. 21, p.8-12, 2004.

CARVALHO, C.C.C.R.; FONSECA, M.M.R. Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene. **Food Chemistry**, v. 95, p. 413-422, 2006.

CHEN, Z.; ZHU, Q.Y.; TSANG, D.; HUANG, Y. Degradation of Green Tea Catechins in Tea Drinks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.477-82, 2001.

CLAUSEN, D.N.; OLIVEIRA, F.M.; CASARIN, J.; SARTORI, E.R.; TARLEY, C.R.T. Desenvolvimento de método por CLAE para quantificação de orfenadrina, paracetamol e cafeína em formulações farmacêuticas. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2066-2079, 2015.

DE MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, v.30, n. 1, p.99-105, 2007.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiology Ver**, v.82, p.47-95, 2002.

DUARTE, M.R.; MENARIM, D.O. Morfodiagnose da anatomia foliar e cauliar de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 545-551, 2006.

DUFRESNE CJ, FARNWORTH ER. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 12: 404, 2001.

DURAN, R. M.; PADILLA, R. B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 44, n. 2, p.101-106, 1993.

FALLER, K. L. A. **Polifenóis, vitamina C e capacidade antioxidante de alimentos orgânicos e convencionais**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Nutrição Josué de Castro. Rio de Janeiro, 2008.

FARHOOSH, R.; GOLMOVAHHED, G.A.; KHODAPARAST, M.H.H. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). **Food Chemistry**, v.100, p.231–236, 2007.

FIRMINO, L. A. **Avaliação da qualidade de diferentes marcas de chá verde (*Camellia sinensis*) comercializadas em Salvador-Bahia**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia, 2011.

FLAMBÓ, P. L. A. F. D. **Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade Antimicrobiana**. Dissertação de Mestrado. Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde, 2013.

GEBEYEHU, B.T.; BIKILA, S.L. Determination of caffeine content and antioxidant activity of coffee. **American Journal of Applied Chemistry**, v. 3, n. 2, p. 69-76, 2015.

GUERRA, R.O.; BERNARDO, G.C.; GUTIÉRREZ, C.V. Cafeína e esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 6, n. 2, p. 60-62, 2000.

GORGULU, S.T.; DOGAN, M.; SEVERCAN, F. the characterization and differentiation of higher plants by fourier transform infrared spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v. 61, n. 3, p. 300-308, 2007.

GHORBANI, A. Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 96, p. 305-312, 2017. **The Pharmacology of Chinese Herbs**, v. 96, p. 305-312, 1993.

GOSSLAU, A.; CHEN, K. Y. Nutraceuticals, Apoptosis, and Disease Prevention. **Nutrition**, v.20, p.95-102, 2004.

HAMILTON-MILLER, J.M.T. Minireview: Antimicrobial Properties of Tea (*Camellia sinensis* L.). **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.39, p.2375-7, 1995.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HAMILTON-MILLER, J.M.T. Anti-cariogenic properties of tea (*Camellia sinensis*). **Journal of Medical Microbiology**, v.50, p.299-302, 2001.

Holiday, E. R.; **Biochem Journalem**, p. 619. 1930

HOLLMAN, P.C.H, KATAN MB. Dietary flavonoids:intake, health effects and bioavailability. **Food Chemistry Toxicology**, v.37, p.937-942, 1999.

HOSSEINZADEH, H; NASSIRI-ASL, M. Review of the protective effects of rutin on the metabolic function as an important dietary flavonoid. **Journal of endocrinological investigation**, v. 37, n. 9, p. 783-788, 2014.

KARORI, S.M.; WACHIRA, F.N.; WANYOKO, J.K.; NGURE, R. M. Antioxidant capacity of different types of tea products. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n.19, p. 2287-2296, 2007.

KOMES, D.; HORZ'IC',D.; BELŠĆ'AK, A.; GANIC', K.K.; VULIC, I. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. **Food Research International**, v.43, p.167–176, 2010.

LABDAR, S. 2010. **Green tea-healthy or unhealthy?** [2015]. Disponível em: <<http://bookdealer.freeyellow.com/bb48green-tea.htm.2010>>. Acesso em: 11 setembro. 2024.

LEE, J. et al. **Compostos aromáticos voláteis em vários chás verdes fermentados**. *Molecules*, v.18, p.10024-1004, 2013. Disponível em: <Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/18/8/10024>.>

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema Para a Interpretação de Espectros de Substâncias Orgânicas na Região do Infravermelho. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 670-673, jul.- aug. 2004. Disponível em: Acesso em: 06 nov. 2019.

LORENZI, H; MATOS, F.J.A.2002. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, p. 542. 2002

LIN, J. K.; LIN-SHIAU, S. Y. Mechanisms of hypolipidemic and anti-obesity effects of tea and tea polyphenols. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, n. 50, p. 211-217, 2006.

LIN, J. et al. Análise do perfil volátil e predição da qualidade do chá Longjing (*Camellia sinensis*) por HS-SPME/GC-MS. **Journal of Zhejiang University-SCIENCE B**, v.13, n.12, p.972-980, 2012. Disponível em: <Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3520451/> >.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, DELIA B. Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 401-407, 2006.

MARIA, Y.Y.M.; GOMIDE, L.M.M. cafeína e café: A dualidade entre seus efeitos tóxicos e antioxidantes. **Revista Intersaúde**, v. 1, n. 1, p. 73-85, 2019.

MARIANO, Renan Silva. **Determinação de cafeína em bebidas estimulantes por cromatografia líquida e espectrofotometria UV-Vis**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2018

MIYAZAWA, T. Absorption, metabolism and antioxidative effects of tea catechin in humans. **BioFactors**, Oxford, n. 13, p. 55-59, 2000.

NAKACHI, K.; EGUCHI, H.; IMAI, K. Can teatime increase one's lifetime? **Ageing Research Reviews**, Oxford, n. 2, p. 1-10, 2003.

ONAMI T., KANAZAWA H. Um método simples para isolamento de cafeína de folhas de chá preto: uso de uma mistura de diclorometano-água alcalina como extrator. **Jornal de Educação Química**, p. 556, 1996.

PAGANINI-COSTA, P.; CARVALHODA-SILVA, D. Uma Xícara (chá) de Química. **Revista Virtual Química**, v.3, n.1, p.27-36, 2011.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química. Nova**, v. 32, n. 3, p.689-702, 2009.

PAVIA, L. D. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 4 ed. São Paulo: Cengage Learning, p. 17 e 29, 2015.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**: Tradução da 5ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PERON, A. P., MARCOS, M. C., CARDOSO, S. C., VICENTINI, V. E. Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis* L. e *Cassia angustifolia* vahl em sistema teste vegetal. **Arquivos de Ciências e Saúde Unipar**, v. 12, n. 1, p. 51-54, 2008.

PUNYASIRI, P.A.N.; ABEYSINGHE, I.S.B.; KUMAR, V.; TREUTTER, D.; DUY, D.; GOSCH, C.; MARTENS, S.; FORKMANN, G.; FISCHER, T.C. Flavonoid biosynthesis in the tea plant *Camellia sinensis*: properties of enzymes of the prominent epicatechin and catechin pathways. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.431, p.22-30, 2004.

RAMARATHNAM, N.; OSAWA, T.; OCHI, H.; KAWAKISHI, S. The contribution of plant food antioxidants to humans health. **Trends Food Science Nutrition**, v. 6, n.3, p.75-82, 1995.

RAVICHANDRAN, R; PARTHIBAN, R. Lipid occurrence, distribution and degradation to favour volatiles during tea processing. **Food Chemistry**, v. 68, n. p. 1, 7-13, jan. 2000.

RAVICHANDRAN, R.; PARTHIBAN, R. The impact of processing techniques on tea volatiles. **Food Chemistry**, v. 62, n. 3, p. 347-353, jul. 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00229-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00229-X).

ROBARDS, K; RYAN, D.; LAVEE, S.. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v.66, p.401-436, 1999.

ROCHA, J. S.; SOUZA, R. V. Síntese, caracterização e estudo das propriedades antioxidantes de complexos contendo quercetina e íons cobre. **Revista Brasileira de Iniciação Científica**, v. 6, n. 3, p. 143-156, 2019.

REYES, A.B.G.; TORRE, A.H.; FERNÁNDEZ, A.J.G.; ARMENDÁRIZ, C.R.; TEJERA, I.F.; GIRONÉS, C.R. Cafeína y quinina en bebidas refrescantes; contribución a la ingesta dietética. **Nutrición Hospitalaria**, v. 32, n. 6, p. 2880-2886, 2015.

RIJKEN, P.J.; WISEMAN, S.A.; WEISGERBER, U.M.; VAN MIERLO, C.A.J.; QUINLAN, P.T.; VAN DE PUT, F. **Antioxidant and Other Properties of Green and Black Tea**. In: CADENAS, E.; PACKER, L. Handbook of Antioxidants. 2nd ed. New

York: Marcel Dekker, 1996. cap.19.

RUSAK, G.; KOMES, D.; LIKIC', S.; HORZ'IC', D.; KOVAC, M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, v.110. p.852–858, 2008.

SÁ, R. S. de; TURELLA, T. K.; BETTEGA, J. M. P. R. **Os efeitos dos polifenóis: catequinas e flavonóides da Camellia sinensis no envelhecimento cutâneo e no metabolismo dos lipídeos, 2007**. TCC (Graduação em Cosmetologia e Estética) – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Balneário Camboriú, 2007.

SABU, M.C.; SMITHA, K.; RAMADASAN, K. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. **Journal of Ethnopharmacology**, v.83, p.109-16, 2002.

SAIGG, N. L.; SILVA, M. C. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 7, n. 1, p. 69-89, 2009.

SATO, T.; MIYATA, G. The Nutraceutical Benefit, Part I: Green Tea. **Nutrition**, v.16, p.315-7, 2000.

SCHIMITZ, W.; SAITO, A. Y.; ESTEVÃO, D.; SARIDAKIS, H. O. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 26, n. 2, p. 119-130, 2005.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V.S.; VELASCO, M.V.R.; MENEZES, C.M.S.; FERREIRA, E.I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.2, p.153-166, 2007.

SENGER, A.E.V.; SCHWANKE, C.H.A.; GOTTLIEB, M.G.V.; Chá verde (Camellia sinensis) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. **Scientia Médica**, v.20, n.4, p.292-300, 2010.

SOUZA, R.A.G.; SICHIERI, R. Consumo de cafeína e prematuridade. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 5, p. 643-650, 2005.

SIVAKUMAR, S.; KHATIWADA, C. P.; SIVA-SUBRAMANIAN, J.; JINI, P.; PRABU, N.; VENKA-TESON, A.; SOUNDARARAJAN, P. FT-IR study of green tea leaves and their diseases of Arunachal Pradesh, Northeast, India. **The Pharmaceutical and Chemical Journal**, v. 1, n. 3, p. 17-24, 2014.

SUEOKA, N., et al. A new function of green tea: prevention of lifestyle-related diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, n. 928, p. 274-280, 2003.

TAVARES, K. M.; PEREIRA, G. F. A.; NUNES, C. A.; PINHEIRO, A. C.; RODARTE, M. P.; GUERREIRO, M. C. **Espectroscopia no infravermelho médio e análise sensorial aplicada à detecção de adulteração de café torrado por adição de cascas de café**. *Química Nova*, v. 35, n. 6, p. 1164-1168, 2012.

TOLEDO, E.M.; SIQUEIRA, A.B.; SANTOSA, T.V.; RIBEIRO, F.S.; CAMARGO, A.J.; OLIVEIRA, S.S. Estudo Teórico dos Parâmetros Estruturais da Cafeína no Vácuo Usando Dinâmica Molecular de Car-Parrinello. **Revista Processos Químicos**, v. 11, n. 21, p. 17-24, 2017.

TONDI, G.; LINK, M.; OO, C.W.; PETUTSCHNIGG, A. A Simple Approach to Distinguish Classic and Formaldehyde-Free Tannin Based Rigid Foams by ATR FT-IR. **Journal of Spectroscopy**, v. 2015, n. 1, p.1-8, 2015.

TURNBULL, D.; RODRICKS, J.V.; MARIANO, G.F.; CHOWDHURY, F. Caffeine and cardiovascular health. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 89, p. 165-185, 2017.

UENOJO, M. et al. Carotenoides: propriedades, aplicações e biotransformação em compostos de sabor. **Química Nova**, v.30, n.3, p.616-622, 2007.

WANG, K.; LIU, F.; LIU, Z.; HUANG, J.; XU, Z.; LI, Y.; CHEN, J.; GONG, Y.; YANG, X. Analysis of chemical components in oolong tea in relation to perceived quality. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p.913–920, 2010.

WILLIAM, C.W. Camellias for Texas Gardens. Texas A&M University, College Station, Texas, 2007. Acesso em agosto 2024. Site: horticulture.tamu.edu/newsletters/hortupdate/2007/jan07/CamelliasTxGard.html

WU, L. Y.; JUAN, C. C.; HO, L. T. Effect of green tea supplementation on insulin sensitivity in Sprague-Dawley rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 643-648, 2004.

YANG, YQ et al. **Caracterização dos componentes voláteis no chá verde por IRAE-HS-SPME/GC-MS combinado com análise multivariada**. *Plos One*, v.13, n.3, p.193 - 393, 2018.

ZHU, J. et al. Characterization of key aroma compounds and enantiomer distribution in Longjing tea. **Food Chemistry**, v. 361, p. 130096, nov. 2021.