

## Determinação de cafeína por método espectrofotométrico

Este método é aplicável a refrigerantes e refrescos que contenham cafeína (trimetilxantina), natural ou adicionada, e baseia-se na extração com clorofórmio em meio alcalino e determinação por espectrofotometria na região do ultravioleta.

### Material

Espectrofotômetro UV/VIS, cubeta de quartzo de 10 mm, balança analítica, algodão hidrófilo, funil de separação de 250 mL, béquer de 100 mL, pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5, 10 e 20 mL, proveta de 50 mL e balões volumétricos de 50 e 100 mL.

### Reagentes

Cafeína com pureza mínima de 99%  
Clorofórmio, grau espectrofotométrico

Solução redutora - Pese 5 g de sulfito de sódio e 5 g de tiocianato de potássio, dissolva em água e dilua a 10 mL em balão volumétrico.

Solução de hidróxido de sódio a 25% m/v

Solução de permanganato de potássio a 1,5% m/v

Solução de ácido fosfórico -- Dilua 15 mL de ácido fosfórico ( $d=1,69\text{g/cm}^3$ ) em 85 mL de água

Sulfato de sódio anidro

Solução-padrão de cafeína - Pese 100 mg de cafeína, dissolva e dilua em clorofórmio num balão volumétrico de 100 mL. Pipete 10 mL da solução-estoque de cafeína e dilua a 100 mL com clorofórmio. Esta solução contém 0,1 mg de cafeína por mL de clorofórmio.

Procedimento - Pipete de 20 a 50 mL da amostra descarbonatada para um funil de separação. Junte 10 mL da solução de permanganato de potássio a 1,5 % e agite. Após 5 minutos, junte 20 mL da solução redutora com agitação contínua. Adicione 2 mL da solução de ácido fosfórico e agite. Adicione 2 mL da solução de hidróxido de sódio a 25 % e agite. Extraia a cafeína com três porções de 30 mL de clorofórmio. Após a separação, retire a camada inferior e filtre-a em sulfato de sódio anidro e algodão e recolha os filtrados em um mesmo balão volumétrico de 100 mL. Lave a haste do funil de separação e o filtro com porções de 2 mL de clorofórmio, após cada extração. Complete o volume com clorofórmio. Determine a absorvância a 276 nm, usando clorofórmio como branco. Para amostras com alto teor de cafeína, faça uma diluição pipetando uma alíquota de 10 mL para balão volumétrico de 50 mL, complete o volume com clorofórmio e faça a leitura da absorvância a 276 nm.

Curva-padrão - Pipete 1, 2, 3, 4, 5 e 6 mL da solução-padrão de cafeína para balões volumétricos de 50 mL e complete o volume com clorofórmio. Estas soluções contêm, respectivamente, 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 e 1,2 mg de cafeína por 100 mL de clorofórmio. Determine a absorvância dessas soluções a 276 nm, usando clorofórmio como branco. Trace a curvapadrão, registrando os valores de absorvância nas ordenadas e as concentrações de cafeína em mg/100 mL de clorofórmio nas abcissas.

#### Cálculo

Calcule a concentração de cafeína na amostra usando a curva-padrão.

$$\underline{C \times 100 \times f} = \text{cafeína em mg/100 mL}$$

A

C = concentração de cafeína na amostra correspondente à leitura da curva-padrão

A = volume da amostra, em mL

f = fator de diluição para o caso de amostra com alto teor de cafeína.

#### Referência Bibliográfica

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