

Determinação de cafeína em bebidas, alimentos e medicamentos utilizando o smartphone e software para computador

Caffeine determination in beverages, foods and medicines using smartphone and computer software

Sergio Marcio Albino¹, Antonio Jacinto Demuner^{1*}, Marcelo Henrique dos Santos¹,

Cristiane Isaac Cerceau¹, Daiane Einhardt Blank¹, Ciro Castro¹

RESUMO

A cafeína é um alcaloide de ocorrência natural nas folhas e sementes de muitas plantas geralmente adicionadas a medicamentos, alimentos e produtos de bebidas, sendo uma das substâncias psicoativas mais consumidas no mundo. O consumo mundial *per capita* tem aumentado através do consumo de bebidas energéticas, medicamentos, chá verde, erva-mate e principalmente, do café. Brasil é líder mundial na produção e exportação de grãos de café. Desta forma, o presente estudo visa analisar e quantificar a presença de cafeína em amostras de café nos diferentes estágios de maturação, chá verde, erva-mate e medicamentos através da técnica de cromatografia em camada delgada (CCD). O smartphone foi utilizado para captura das manchas nas placas de CCD e o tratamento de imagens digitais foi feito a partir do uso de software computacional ImageJ. Os resultados das análises e quantificação foram comparados com os resultados no espectrofotômetro de UV-visível. Os resultados observados nos processos avaliativos foram satisfatórios o que valida a técnica simples e rápida para determinação de cafeína em amostras naturais e em formulações.

Palavras-chave: Cafeína; ImageJ; Smartphone; Cromatografia; Espectrofotômetro

ABSTRACT

Caffeine is a naturally-occurring alkaloid in the leaves and seeds of many plants usually added to medicines, food and drink products, one of the most consumed psychoactive substances in the world. World consumption per capita has increased through the consumption of energy drinks, medicines, green tea, yerba mate and mainly coffee. Brazil is a world leader in the production and export of coffee beans. Thus, the present study aims to analyze and quantify the presence of caffeine in coffee samples in the different stages of maturation, green tea, yerba mate and medicines through the technique of thin layer chromatography (CCD), using a smartphone to capture stains on CCD plates and the treatment of digital images from the use of computer software ImageJ. The results of the analyses and quantification were compared with the results in the UV-visible spectrophotometer. The results observed in the evaluation processes were satisfactory.

Keywords: Caffeine; ImageJ; Smartphone; Chromatography; Spectrophotometer.

¹ Universidade Federal de Viçosa –UFV

*E-mail: ademuner@ufv.br

INTRODUÇÃO

A cafeína (1,3,7- trimetilxantina) é classificado como alcalóide do grupo das xantinas (RIKSEN, SMITS & RONGEN, 2011). Este composto bioativo presente nas folhas e sementes de plantas, vem sendo usada para o consumo em bebidas, na forma de infusão, como estimulante. Entre as plantas que contém a cafeína destaca-se o café (*Coffea* sp.), chá verde (*Camilla sinensis*) cacau (*Theobroma cocoa*), guaraná (*Paullinia cupana*) e erva-mate (*Ilex paraguayensis*). Além disso a cafeína tem sido adicionada artificialmente em analgésicos, refrigerantes, alimentos e energéticos (FINNEGAN, 2003; ANDREWS et al., 2007; ROSTAGNO et al., 2011; AMOS-TAUTUA and DIEPREYE, 2014).

A cafeína é considerada como estimulante do sistema nervoso central (CHRISTIAN & BRENT, 2001; ZAGNONI & ALBANO, 2002; BHAWANI et al. 2015). Além disso, o consumo de cafeína tem apresentado outros benefícios a saúde, sendo eficaz na redução dos riscos de doenças neurodegenerativas como a Doença de Parkinson e Alzheimer (ALHAIDER, ALEISA, TRAN, ALZOUBI, & ALKADHI, 2010; DUARTE, CARVALHO, CUNHA, & GRUETTER, 2009; GEVAERD, TAKAHASHI, SILVEIRA, & DA CUNHA 2001; SPINETTA et al., 2008).

Com relação a investigação do teor de cafeína nas amostras de plantas, medicamentos e alimentos, tem sido relatado nas pesquisas vários métodos de determinação da cafeína, como gravimetria, espectrofotometria, cromatografia líquida de alta eficiência, eletroforese capilar, quimiometria, espectroscopia de infravermelho, cromatografia em camada delgada (CCD) (ROSTAGNO et al., 2011; AMOS-TAUTUA AND DIEPREYE, 2014; BHAWANI et al., 2015).

Evidenciando análises econômicas, smartphones já vem sendo utilizados, mantendo a confiabilidade e reprodutibilidade dos resultados. Softwares de análise colorimétrica e várias análises químicas vem sendo desenvolvidos utilizando imagem digital (BÖCK et al., 2020).

Dentre algumas aplicações tem sido descrito a determinação do teor de biodiesel em diesel (SOARES et al., 2020), determinação de flúor e de fósforo em água (PAPPIS et al., 2019), verificação de cromo em amostras de couro (COSTA et al., 2019), investigação do teor de clorofila em plantas (MOHAN et al., 2019), medição do ozônio troposférico (CERRATO-ALVAREZ et al., 2019), monitoramento do crescimento de

plantas na agricultura (LI et al., 2020), determinação de titânio em plástico (LOPEZ-MOLINERO et al., 2010), determinação de diclofenaco de sódio, dipirona de sódio e gluconato de cálcio drogas injetáveis (LYRA et al., 2011); demonstração do princípio da absorção usando a análise de imagem de cores digitais (KOHL et al., 2006), demonstração da espectrometria de emissão de chama baseada em imagem digital (LYRA et al., 2009).

A maioria dos métodos que utilizam aquisição de imagens digitais para análises químicas, fazem o uso de softwares computacionais para o tratamento das imagens. O ImageJ vem destacando-se pela sua funcionalidade, um programa de computador de domínio público, feito em Java destinado a processamento de imagens (GONZALEZ, 2009).

Os avanços tecnológicos na aquisição e no processamento de imagens vêm despertando o interesse dos pesquisadores, principalmente devido à comprovação da eficácia dos seus resultados em relação a equipamentos e métodos colorimétricos tradicionais.

Nas determinações químicas onde acontece a modificação de cor mediante uma reação química, é possível capturar e processar essas imagens, resultando em uma análise mais rápida, com menor custo, sendo uma alternativa a utilização de equipamentos robustos e sofisticados, como espectrofotômetros e colorímetros (HELFER et al., 2017; BAZANI et al., 2021; ALMEIDA et al., 2022; SANTOS et al., 2022).

Apesar de não serem evidenciados estudos referente ao uso de imagens digitais para a determinação da cafeína, o método padrão de preparo da amostra apresenta as características e o embasamento teórico necessário para a aplicação dessa técnica, visto que as técnicas de detecção são baseadas na mudança de cor da mancha conforme a variação da concentração. Neste sentido, o presente trabalho buscou desenvolver um procedimento para determinação da cafeína, utilizando a aquisição por smartphone e o tratamento de imagens digitais a partir do uso de softwares computacionais e aplicativos móveis. Capaz de reduzir a ação dos interferentes da análise e proporcionando um procedimento confiável, simples e acessível.

O uso do programa para computador ImageJ no presente trabalho teve com finalidade a determinação da área das manchas correspondentes as concentrações de cafeína das referidas amostras que foram encontradas nas placas de CCD e reveladas com uma lâmpada de UV. O método é simples, preciso e com reduzido consumo de amostras

e de reagentes quando comparado a outros métodos tradicionais relatados na literatura, reduzindo, assim, o impacto ambiental.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo da amostra

As amostras de chás, erva mate e medicamentos foram adquiridas no comércio na cidade de Viçosa, já as amostras de café em diferentes estágios de maturação foram coletadas na casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa e utilizadas para análise. As amostras, quando necessárias, foram triturados em gral e pistilo utilizando água e diclorometano como solventes. As misturas foram filtradas e o filtrado foram utilizados para os ensaios em Cromatografia em Camada Delgada (CCD). As amostras que já estavam no estado líquido foram realizadas a análises de cafeína diluindo a amostra em diclorometano com solvente. Os comprimidos foram pesados e triturados em gral e pistilo e sendo solubilizados com 10 mL de água destilada, em seguida a solução resultante foi transferida para um funil de bromo e acrescido 4 mL de diclorometano, após o repouso da mistura a fase orgânica foi retirada, e transferida para um balão volumétrico de 10 mL. À fase aquosa resultante extração, foi acrescentado mais 3 mL de diclorometano, e a fase orgânica novamente foi separada e transferida para o balão volumétrico. Uma terceira extração teve como objetivo extrair toda a cafeína presente nos comprimidos, sendo o método utilizado da mesma forma da segunda extração. O volume do balão volumétrico de 10 mL onde se encontrava a solução de cafeína extraída dos medicamentos teve seu volume ajustado com diclorometano para completar 10 mL. Para a extração da cafeína nas amostras sólidas de café, chás e erva mate foi realizado o seguinte procedimento. Com o auxílio de uma balança foram pesados 10 gramas de café, chá ou erva mate e transferimos para um béquer de 250 mL em seguida adicionamos 4,8 gramas de carbonato de sódio e 100 mL de água destilada. A mistura foi aquecida até a ebulição com agitação por quinze minutos, após este tempo, a mistura foi resfriada até cerca de 55 °C e filtrada a vácuo. Posteriormente a mistura foi resfriada entre 15 e 20, sendo adicionado gelo picado e a mistura foi filtrada outra vez. A mistura foi transferida para um funil de separação de 125 mL e a extração do produto foi feita com 20 mL de diclorometano, o procedimento foi realizado em triplicata. As porções que foram obtidas

de extratos orgânicos foram lavados com 20 mL de água destilada. Os extratos obtidos foram transferidos para um Erlenmeyer de 125 mL e deixado em contato com sulfato de magnésio por dez minutos e filtrado novamente. O solvente foi evaporado a pressão reduzida em rotaevaporador, podendo também ser usado um banho-maria na capela. O resíduo sólido transferimos para um frasco previamente pesado e rotulado.

Método ImageJ

O uso do programa para computador ImageJ teve com finalidade a determinação da área das manchas que foram encontradas nas placas de CCD e reveladas com uma lâmpada de UV. Primeiramente, foi feito o download do programa que está disponível gratuitamente na página: <https://imagej.nih.gov/ij/download.html> O Programa foi executado em sua pasta, clicando no ícone que possuía a imagem de microscópio. Clicando na opção File, uma janela foi aberta e clicamos na opção Open.

Após esta etapa, uma nova janela foi aberta e selecionamos a figura que desejamos editar. Uma régua também foi adicionada a imagem com o objetivo de determinar a escala. Na tela inicial do programa clicar no ícone da ferramenta linha, com o auxílio da régua da foto para marcar e configurar a escala que ficou a 1 cm da base. A seguir, selecione a opção Analyze (a), no menu principal, e na caixa aberta Set Scale (b), uma nova aba será aberta e deve ser selecionada a opção Known distance (b), onde se insere o número 1 e na opção Unit of length (b) inserir a unidade de medida em cm. Ao final do procedimento, selecionar OK. Após esta etapa, volta para tela inicial. O próximo passo é clicar na opção Image, localizada na tela inicial e em seguida na opção Type e 8-bit (a). A seguir é selecionada a opção Process(b) na barra da tela inicial, em seguida Binary (b) e em Make Binary (b). Para determinar a área das manchas, deve selecionar na barra principal o comando similar a uma barra (a), e em seguida os comandos Analyze e Measure(b) e uma nova janela chamada Results (c) irá aparecer.

Construção da curva analítica para determinação de cafeína

Uma solução foi preparada com concentração de 9,975 mg mL⁻¹. Em seguida, foram transferidos volumes da solução mãe e acrescido volumes de diclorometano. A curva de calibração foi construída aplicando-se 24 µL de sete tipos de soluções padrão de

caféina em uma placa CCM ALUGRAM Xtra SIL G/UV 254 recobertas com sílica-gel e dimensões de 20 cm x 5 cm. Cada ponto de aplicação possuía uma distância de 1 cm e todos estavam localizados a 1,5 cm de altura da base. A distância total percorrida pela fase móvel foi de 3 cm. A aplicação foi realizada empregando-se uma Micro seringa Hamilton. Ao final da aplicação, a placa foi inserida em uma cuba cromatográfica, sendo a corrida realizada por uma fase móvel composta pela mistura das seguintes substâncias: 59,5 mL de acetato de etila, 7 mL de etanol e 3,5 mL de hidróxido de amônio. Após a eluição, o sistema foi revelado com lâmpada de luz ultravioleta ($\lambda = 254$ nm). A confirmação da presença dos padrões nas amostras foi observada pela área da mancha com auxílio do programa ImageJ. A foto foi registrada dispendo-se de um Smartphone modelo Moto G 5S[®]. A imagem foi tratada no software ImageJ.

Construção da curva de calibração da concentração - UV.

Da mesma forma que para construção da curva de calibração para a CCD, a determinação da concentração das amostras preparadas de sete soluções padrão em diferentes concentrações. Os volumes das soluções padrão foram respectivamente, 60, 80, 100, 120, 140, 160 e 180 microlitros, sendo transferido para balões de 10 mL e tendo seu volume completado com diclorometano. Os padrões foram lidos em um espectrofotômetro UV-Visível 50 PROBE – Casy – Varian, utilizando ($\lambda = 272$ nm). Os testes foram feitos em triplicas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva analítica foi construída para determinação da área da mancha observada na placa de cromatografia e relacionada com a concentração e massa de caféina contida em cada uma das soluções padrão. Como se pode observar a equação da reta $y = 0,0222x + 0,00717$ com coeficiente de determinação (R^2) igual 0,9948 cujo valor encontrado dá a certeza que o método é bem confiável. Utilizando a curva de calibração obtida foi feita a análise das amostras. As eluições das amostras nas placas de cromatografia foram feitas em triplicas e com base na análise foi construída uma tabela para os medicamentos (Tabela 1).

Tabela 1 – Resultados obtidos para medicamentos com o uso das placas de CCD

Amostra	Amostra (mg L ⁻¹)	Cafeína (mg)	Amostra (mg L ⁻¹)	Cafeína (mg)
Medicamento I	1,545	0,155	3,090	30,901
Medicamento II	2,536	0,254	5,072	50,721
Medicamento III	2,266	0,227	5,035	50,350
Medicamento IV	1,635	0,164	3,270	32,703

Como visto a tabela 1 o método proposto, apesar de simples, mostrou resultado muito interessante, visto que o valor esperado de cafeína, que é expresso na embalagens dos medicamentos são muito próximos dos valores encontrados com o uso das placas e do programa ImageJ.

Para os extratos obtidos a partir de extratos de amostras de café, chás e erva mate uma nova curva de calibração foi feita e o procedimento foi realizado em triplicas conforme descritos para os ensaios com as placas de CCD para os medicamentos. Depois de um tratamento do cromatograma com o uso do programa ImageJ foram obtidas as seguintes áreas x concentração (mg mL⁻¹) de acordo com a seguinte curva de calibração. partir da equação da reta para os medicamentos, sendo esta $y = 7,307x + 0,0571$ e um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9955 foi feita a determinação de cafeína em amostras de café solúvel, chá verde, chá preto, erva mate, café verde, café amarelo e café vermelho. A determinação foi feita em triplicata e o resultado obtido de cafeína foram os observados na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados obtidos para os extratos com o uso das placas de CCD

Amostras	Concentração (mg mL ⁻¹) UV	Concentração (mg)	Concentração (mg g ⁻¹)	Concentração (mg 100 g ⁻¹)
Café solúvel	0,0098	4,8785	9,20	920,47
Chá verde	0,0071	3,5544	6,71	670,65
Chá preto	0,0083	4,1252	7,64	763,92
Erva mate	0,0051	2,5271	4,54	453,98
Café verde	0,0094	4,6959	8,75	875,01
Café amarelo	0,0093	4,6502	9,00	900,04
Café vermelho	0,0094	4,6959	9,09	908,88

Curva analítica utilizando espectrofotômetro

Com o objetivo de validar o método proposto neste trabalho utilizamos uma técnica de espectrofotometria na região do ultravioleta. As análises foram realizadas em triplicas e a partir deste momento foi construída uma curva de calibração. Como se pode

observar pela equação da reta $y = 0,0673x + 0,005$ foi obtido o coeficiente de determinação (R^2) igual 0,9996. Com base nos dados obtidos foram feitas as leituras de nossas amostras de medicamentos os valores encontrados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados obtidos para medicamentos utilizando o espectrofotômetro UV

Amostra	Amostra (mg mL ⁻¹)	Cafeína (mg)	Amostra (mg mL ⁻¹)	Cafeína (mg)
Medicamento I	1,545	0,1545	3,0906	30,906
Medicamento II	2,511	0,2511	5,0223	50,223
Medicamento III	2,259	0,2259	5,0190	50,190
Medicamento IV	1,630	0,1630	3,2600	32,600

Para os extratos obtidos a partir das amostras de café, chás e erva mate uma nova curva de calibração foi feita e o procedimento foi realizado em triplicas conforme descritos para os ensaios utilizando o espectrofotômetro na região do UV-Visível. A partir da equação da reta para os extratos, sendo esta $y = 69,12x + 0,008$ e um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9996 foi feita a determinação da quantidade de cafeína em amostras de café solúvel, chá verde, chá preto, erva mate, café verde, café amarelo e café vermelho. A determinação foi feita em triplicata e o resultado obtido de cafeína serão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados obtidos para extratos utilizando o espectrofotômetro UV

Amostras	Concentração (mg mL ⁻¹) UV	Concentração no balão (mg)	Concentração (mg g ⁻¹)	Concentração (mg/100 g)
Café solúvel	0,0097	4,8683	9,19	918,56
Chá verde	0,0071	3,5446	6,69	668,78
Chá preto	0,0082	4,1136	7,62	761,78
Erva mate	0,0050	2,5149	4,52	451,79
Café verde	0,0094	4,6827	8,73	872,55
Café amarelo	0,0093	4,6320	8,97	896,52
Café vermelho	0,0094	4,6803	9,06	905,86

Os resultados apresentados abaixo demonstra que o método utilizado para determinação de cafeína em medicamentos, café, chá e erva mate utilizando a Cromatografia em Camada Delgada provou ser uma técnica bem interessante para ser aplicada, já que quando comparado com uma técnica tradicional de análise que é um espectrofotometria UV-Visível mostrou bem promissor obtendo resultados muito próximos. Como se observa os valores encontrados com o uso do programa ImageJ e as

placas de CCD possuem um erro praticamente insignificante quando comparados como a técnica de espectrofotometria UV-Visível, Tendo o erro variando de 0,016% (medicamento I) a 0,99% (medicamento II). Quando comparados os valores encontrados com os valores de referência, obtidos na bulas dos medicamentos, para as amostras I, II e III o resultado é bem interessante com um erro variando de 0,7% a 3,0%, dentro do limite de tolerância que é de 5%. Quando analisamos o medicamento IV o erro encontrado é de 9,0%. Assim, este erro pode estar relacionado a etapa de extração da cafeína para este medicamento e pode ser que tenha havido uma pequena contaminação ou alguma substância presente medicamento, diferente da cafeína, não tenha sido eliminado totalmente durante a extração para esta amostra, visto que quando comparados com a técnica de UV o erro é de 0,31%.

Tabela 5 – Resultados Obtidos para os medicamentos

Amostra	Placas de CCD		UV-Visível		
	Cafeína (mg mL ⁻¹)	Massa de cafeína total (mg)	Concentração de cafeína (mg mL ⁻¹)	Massa de cafeína total (mg)	Valor esperado de cafeína (mg)
Medicamento I	3,0901	30,901	3,0906	30,906	30,00
Medicamento II	5,0721	50,721	5,0223	50,223	50,00
Medicamento III	5,0350	50,350	5,0190	50,190	50,00
Medicamento IV	3,2703	32,701	3,2600	32,600	30,00

Já os resultados apresentados na tabela 6 mostra os resultados para os extratos de café, chá e erva mate.

Tabela 6 – Comparação dos resultados Obtidos para os extratos

Amostra	Placas de CCD		UV-Visível	
	Concentração de cafeína (mg g ⁻¹)	Concentração de cafeína (mg 100g)	Concentração de cafeína (mg g ⁻¹)	Concentração de cafeína (mg 100 g)
Café solúvel	9,20	920,47	9,19	918,56
Chá verde	6,71	670,65	6,69	668,78
Chá preto	7,74	763,92	7,72	761,78
Erva mate	4,54	453,98	4,52	451,79
Café verde	8,75	875,01	8,73	872,55
Café amarelo	9,00	900,04	8,97	896,52
Café vermelho	9,09	908,88	9,06	905,86

Da mesma forma que foi observado para os resultados dos medicamentos a técnica de usar a Cromatografia em Camada Delgada e o programa ImageJ para determinação de cafeína em extratos de café, chá e erva mate se mostrou eficiente, visto que, quando

comparados os resultados obtidos com o método de espectrofotometria UV-Visível o erro entre as técnicas variou de 0,10% (café solúvel) à 0,44% (erva mate).

CONCLUSÃO

Neste trabalho, um novo método para determinação de cafeína em medicamentos, chá, erva mate e café foi desenvolvido. Neste método, foram utilizados, para determinar a cafeína nas amostras a técnica de Cromatografia em Camada Delgada, o programa ImageJ, um celular e um computador. Os resultados mostraram que o método é uma alternativa eficaz e econômica à determinação de cafeína nas amostras, dispensando a utilização de um aparelho espectrofotômetro. O método é simples, preciso e com reduzido consumo de amostras e de reagentes quando comparado a outros métodos tradicionais relatados na literatura, reduzindo, assim, o impacto ambiental.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, G.A.; DEMUNER, A.J.; BLANK, D.E.; CERCEAU, C.I.; SOUSA, B.L.; DEMUNER, I.F.; COURA, M.R.; FIRMINO, M.J.M.; SANTOS, M.H. An Alternative and Fast Method of Nitrite Determination in Meat Sausages Using the PhotoMetrix® Smartphone Applicative for Digitized Image Processing. **Open Access Library Journal**, v. 9, p.1-10, 2022. doi: 10.4236/oalib.1108689.

BAZANI, E.J.O.; BARRETO, M.S.; DEMUNER, A.J.; SANTOS, M.H.; CERCEAU, C.I.; BLANK, D.E.; FIRMINO, M.J.M.; SOUZA, G.S.F.; FRANCO, M.O.K.; SUAREZ, W.T.; STRINGHETA, P.C. Smartphone Application for Total Phenols Content and Antioxidant Determination in Tomato, Strawberry, and Coffee Employing Digital Imaging. **Food Analytical Methods**, v.14, p.631–640, 2021. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01907-z>

GONZALEZ R.C. & WOODS R.E. Processamento Digital de Imagens 3 ed. [S.l.]: **Pearson**, 2009.

BHAWANI, S. H.; FONG, S. S.; IBRAHIM, M. N. M. Spectrophotometric analysis of caffeine. **International Journal of Analytical Chemistry**, v.5, p.1–7, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/170239>.

CHRISTIAN, M. S. & BRENT, R. L. Teratogen update: Evaluation of the reproductive and developmental risks of caffeine. **Teratology**, v.64, p.51–78, 2001. <https://doi.org/10.1002/tera.1047>

ZAGNONI, P. G., & ALBANO, C. (2002). Psychostimulants and epilepsy. **Epilepsia**, v.43, p.28–31. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2002.043s2028.x>

ROSTAGNO, M. A.; MANCHÓN, N.; D'ARRIGO, M.; GUILLAMÓN, E.; VILLARES, A.; GARCÍA-LAFUENTE, A.; MARTÍNEZ, J. A. (2011). Fast and simultaneous determination of phenolic compounds and caffeine in teas, mate, instant coffee, soft drink and energetic drink by high-performance liquid chromatography using a fused-core column. **Analytica Chimica Acta**, v.685, p.204–211. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.11.031>.

AMOS-TAUTUA, BAMIDELE MARTIN W.; DIEPREYE E.R.E. Ultra-violet spectrophotometric determination of caffeine in soft and energy drinks available in Yenagoa, Nigeria. **Advance Journal of Food Science and Technology Open Access**, v.6, p.155 – 158, 2014. <https://doi.org/10.19026/ajfst.6.2>

TRIPETCH, P. & BOROMPICHAICHARTKUL, C. (2019). Effect of packaging materials and storage time on changes of colour, phenolic content, chlorogenic acid and antioxidant activity in arabica green coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). **Journal of Stored Products Research**, v.84, Article 101510. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.101510>.

ICO. (2020). **International Coffee Organization. Historical Data on the Global Coffee Trade**. http://www.ico.org/new_historical.asp?section=Statistics. Accessed 21 January 2020.

ALHAIDER, I. A.; ALEISA, A. M.; TRAN, T. T.; ALZOUBI, K. H.; ALKADHI, K. A. Chronic caffeine treatment prevents sleep deprivation-induced impairment of cognitive function and synaptic plasticity. **Sleep**, v.33, p.437–444, 2010. [10.1093/sleep/33.4.437](https://doi.org/10.1093/sleep/33.4.437)

DUARTE, J. M.; CARVALHO, R. A.; CUNHA, R. A.; GRUETTER, R. (2009). Caffeine consumption attenuates neurochemical modifications in the hippocampus of streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Neurochemistry**, v.111, p.368–379, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06349.x>

SPINETTA, M. J.; WOODLEE, M. T.; FEINBERG, L. M.; STROUD, C.; SCHALLERT, K.; CORMACK, L. K.; SCHALLERT, T. Alcohol-induced retrograde memory impairment in rats: prevention by caffeine. **Psychopharmacology** (Berlin), v.201, p. 361–371, 2008. [10.1007/s00213-008-1294-5](https://doi.org/10.1007/s00213-008-1294-5)

GEVAERD, M. S.; TAKAHASHI, R. N.; SILVEIRA, R.; DA CUNHA, C. Caffeine reverses the memory disruption induced by intra-nigral MPTP-injection in rats. **Brain Research Bulletin**, v.55, p.101–106, 2001. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(01\)00501-9](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(01)00501-9)

ANDREWS, K. W.; SCHWEITZER, A.; ZHAO, C.; HOLDEN, J. M.; ROSELAND, J. M.; BRANDT, M. The caffeine contents of dietary supplements commonly purchased in the US: Analysis of 53 products with caffeine-containing ingredients. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.389, p.231–239, 2007. [10.1007/s00216-007-1437-2](https://doi.org/10.1007/s00216-007-1437-2)

FINNEGAN, D. The health effects of stimulant drinks. **Nutrition Bulletin**, v.28, p.147–155, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1467-3010.2003.00345.x>

RIKSEN, N. P.; SMITS, P.; RONGEN, G. A. The cardiovascular effects of methylxanthines. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v.200, p.413–437, 2001. https://doi.org/10.1007/978-3-642-13443-2_16

BÖCK, F. C.; HELFER, G. A.; DA COSTA, A. B.; DESSUY, M. B.; FERRAO, M. F. Photometric and colorimetric image analysis using smartphones. **Journal of Chemometrics**. 2020; e3251. <https://doi.org/10.1002/cem.3251>

SOARES, S.; NUNES, L. C.; MELCHERT, W. R.; ROCHA, F. R. P. Spot test exploiting smartphone-based digital images for determination of biodiesel in diesel blends. **Microchemical Journal**. v. 152, 104273, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104273>

PAPPIS, C.; LIBRELOTTO, M.; BAUMANN, L. Point-of-use determination of fluoride and phosphorus in water through a smartphone using the Photometrix ® App. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**. v. 6, n. 25, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.TN-25-2019>

COSTA, V.; NEIVA, A.; PEREIRA-FILHO, E. Chromium speciation in leather samples: an experiment using digital images, mobile phones and environmental concepts. **Eclética Química J.** v. 44, n. 1, p.62-74, 2019. <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v44.1>

MOHAN, P. J.; GUPTA, S.D. Intelligent image analysis for retrieval of leaf chlorophyll content of rice from digital images of smartphone under natural light. **Photosynthetica.** v. 57, n. 2, p. 388-398, 2019. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.046>

CERRATO-ALVAREZ, M.; FRUTOS-PUERTO, S.; MIRO-RODRÍGUEZ, C.; PINILLA-GIL, E. Measurement of tropospheric ozone by digital image analysis of indigotrisulfonate-impregnated passive sampling pads using a smartphone camera. **Microchem Journal** 154:104535, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104535>.

LI, C.; ADHIKARI, R.; YAO, Y. Measuring plant growth characteristics using smartphone based image analysis technique in controlled environment agriculture. **Computers and Electronics in Agriculture.** v. 168, 105123. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2019.105123>

LOPEZ-MOLINERO, A.; LIÑAN, D.; SIPIERA, D.; FALCON, R.; Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics, **Microchemical Journal**, v. 96, p. 380-385, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.06.013>

LYRA, W. S.; SANTOS, V. B.; DIONÍZIO, A. G. G.; MARTINS, V. L.; ALMEIDA, L. F.; NÓBREGA-GAIÃO, E.; DINIZ, P. H.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. Digital image based flame emission spectrometry, **Talanta**, v. 77, p. 1584-1589, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.09.057>

LYRA, W. S.; SANCHES, F. A. C.; CUNHA, F. A. S.; DINIZ, P. H. G. D.; LEMOS, S. G.; SILVA, E. C.; ARAUJO, M. C. U. Indirect determination of sodium diclofenac, sodium dipyrone and calcium gluconate in injection drugs using digital image-based (webcam) flame emission spectrometric method. **Analytical Methods**, v. 3, p. 1975-1980, 2011. <https://doi.org/10.1039/C1AY05197K>

KOHL, S. K.; LANDMARK, J. D.; STICKLE, D. F. Demonstration of absorbance using digital color image analysis and colored solutions, **Journal Chemical Education**, v. 83, n. 4, p. 644-646, 2006. <https://doi.org/10.1021/ed083p644>

HELPER, G.A.; MAGNUS V.S., BÖCK F.C.; TEICHMANN A.; FERRAO M.F. DA COSTA A. B. PhotoMetrix: an application for univariate calibration and principal components analysis using colorimetry on mobile devices. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.28, p.2, 2017. doi:<https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160182>

SANTOS, L.; DEMUNER, A.; BLANK, D.; CERCEAU, C.; DEMUNER, I.; COURA, M.; FIRMINO, M.; SANTOS, M.; MOURA, N. An Alternative Tool for Determining Flavonoid Compounds in Markhamia tomentosa and Bunchosia glandulifera Using Digital Image Analysis. **Open Journal of Applied Sciences**, 12, 714-722, 2022. doi: 10.4236/ojapps.2022.125048.

Recebido em: 10/09/2022

Aprovado em: 08/10/2022

Publicado em: 12/10/2022