



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

GABRIELA GOMES BASTOS OLIVEIRA

**CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COMO MÉTODO DE
ANÁLISE DE BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS DE ORIGEM VEGETAL: UMA
REVISÃO**

FORTALEZA

2022

GABRIELA GOMES BASTOS OLIVEIRA

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COMO MÉTODO DE ANÁLISE
DE BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS DE ORIGEM VEGETAL: UMA REVISÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Audino Zambelli.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O47c Oliveira, Gabriela Gomes Bastos.
Cromatografia líquida de alta eficiência como método de análise de bebidas não alcoólicas de origem vegetal : uma revisão / Gabriela Gomes Bastos Oliveira. – 2022.
27 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Alimentos, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Rafael Audino Zambelli.

1. Análise instrumental de alimentos. 2. CLAE. 3. Separação. I. Título.

CDD 664

GABRIELA GOMES BASTOS OLIVEIRA

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COMO MÉTODO DE ANÁLISE
DE BEBIDAS NÃO ALCÓOLICAS DE ORIGEM VEGETAL: UMA REVISÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Engenharia de Alimentos.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rafael Audino Zambelli (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Vanderson da Silva Costa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Luciana Gama de Mendonça
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dedico este trabalho a Deus, o maior orientador da minha vida. Ele nunca me abandonou nos momentos de necessidade e somente através da ajuda da Sua Sabedoria Infinita que este trabalho foi concluído de forma satisfatória.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, pela minha vida, e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho.

Aos meus pais, Cláudia e Benedito, e avós, Creusimar e José, que não mediram esforços para me proporcionar um ensino de qualidade durante todo o meu período escolar.

A minha irmã Daniela, por sempre apoiar, incentivar e acreditar nos meus sonhos.

Ao meu esposo Wesley, por ser meu porto seguro e compreender a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

Aos amigos Rebeca, Jéssica, Vanessa, Andressa, Thaís, Joane e Bruno, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Ao professor Rafael, por ter sido meu orientador e ter desempenhado tal função com dedicação e amizade.

Aos demais professores, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

Ao departamento de Engenharia de Alimentos em especial ao José Pereira por todo o suporte e amizade ao longo da graduação.

Ao Programa de Aprendizagem Cooperativa em Células Estudantis, na pessoa dos servidores Hermany e Juan, que contribuíram não só para minha formação acadêmica, mas também como pessoa.

“São as nossas escolhas, mais do que as nossas capacidades, que mostram quem realmente somos.”

(Alvo Dumbledore)

RESUMO

No contexto das ciências que estudam os alimentos, a análise bromatológica é de fundamental importância, pois permite a avaliação dos diversos segmentos de qualidade e segurança de alimentos, abrangendo desde a composição química dos alimentos, suas propriedades químicas, físicas e toxicológicas a adulterações, contaminações e fraudes. Sendo os alimentos e bebidas matizes orgânicos complexas e havendo a necessidade resultados cada vez mais confiáveis, torna-se impreterível o desenvolvimento de métodos instrumentais mais precisos. Entre as técnicas de análise instrumentais atuais, a Cromatografia, em especial a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, se destaca por ser um método que permite a separação de compostos da amostra de interesse e sua avaliação qualitativa e quantitativa, além de permitir a utilização de outros métodos analíticos em conjunto. Diante das diversas possibilidades de análises por meio da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, esta técnica se mostra eficaz para a avaliação de amostras tão complexas como os matizes alimentares, sendo possível avaliar diferentes compostos simultaneamente, o que permite uma análise panorâmica dos produtos, sendo possível concluir que a técnica apresenta uma relação custo-benefício bastante considerável.

Palavras-chave: Análise instrumental de alimentos, CLAE, separação.

ABSTRACT

In the context of the sciences that study food, bromatological analysis is of fundamental importance, as it allows the evaluation of the various segments of food quality and safety, ranging from the chemical composition of food, its chemical, physical and toxicological properties to adulteration, contamination and frauds. Since foods and beverages have complex organic hues and there is a need for increasingly reliable results, the development of more precise instrumental methods becomes imperative. Among the current instrumental analysis techniques, Chromatography, especially High Performance Liquid Chromatography, stands out for being a method that allows the separation of compounds from the sample of interest and their qualitative and quantitative evaluation, in addition to allowing the use of other analytical methods together. Given the various possibilities of analysis through High Performance Liquid Chromatography, this technique is effective for the evaluation of samples as complex as food nuances, being possible to evaluate different compounds simultaneously, which allows a panoramic analysis of the products, being possible conclude that the technique presents a very considerable cost-benefit ratio.

Keywords: Instrumental food analysis, HPLC, separation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Equipamento básico de CLAE. a) reservatório da fase móvel; b) bomba de alta pressão; c) válvula de injeção; d) coluna; e) detector e f) registrador.....	20
Figura 2 - Estrutura química do ácido málico	20
Figura 3 - Estrutura química da cafeína (a) e trigonelina (b)	22
Figura 4 – Monossacarídeos glicose e frutose	23
Figura 5 – Molécula de patulina	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Palavras-chave utilizadas para pesquisa.....	17
Tabela 2 – Vantagens e Desvantagens da CLAE	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIA	Associação Brasileira da Indústria de Alimentos
ABIR	Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas não Alcoólicas
ACP	Análise de Componentes Principais
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CG	Cromatografia Gasosa
CLC	Cromatografia Líquida Convencional
ECD	Detector Eletroquímico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EM	Espectrometria de Massas
FDA	Food and Drug Administration
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PIB	Produto Interno Bruto
RI	Índice de Refração
SPD	Serial Presence Detect
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. Geral	16
2.2 Específicos	16
3. METODOLOGIA	17
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
4.1. Bebidas não alcoólicas de origem vegetal	18
4.2. Cromatografia	18
4.2.1. Cromatografia Líquida de Alta eficiência	19
4.3. Ácidos Orgânicos	20
4.4. Compostos Bioativos	21
4.5. Açúcares	23
4.6. Micotoxinas	24
4.7. Acrilamida	24
4.8. Vantagens e Desvantagens da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	25
5. CONCLUSÃO	26
6. REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

No contexto das ciências que estudam os alimentos, a análise bromatológica, ou análise de alimentos é de fundamental importância, pois por meio dela é possível avaliar os diversos segmentos de qualidade e segurança de alimentos, bem como parâmetros de processamento e armazenamento. A bromatologia abrange desde a composição química dos alimentos, suas propriedades químicas, físicas e toxicológicas a adulterações, contaminações e fraudes, relacionando-se com o alimento humano desde a produção até a distribuição. Sendo os alimentos matizes orgânicos complexas e havendo a necessidade resultados cada vez mais confiáveis, torna-se impreterível o desenvolvimento de métodos instrumentais mais precisos (Instituto Adolfo Lutz, 2008; Ceará, 2013).

Entre as técnicas de análise instrumentais atuais, a cromatografia se destaca por ser um método que permite a separação de compostos da amostra de interesse e sua avaliação qualitativa e quantitativa, além de permitir a utilização de outros métodos analíticos em conjunto. Este é um método físico-químico e sua mecânica se baseia na separação dos compostos de uma mistura por meio de sua distribuição em duas fases, de modo que os compostos que apresentam maior solubilidade na fase móvel se movimentam mais rapidamente pela coluna e as menos solúveis se movimentam mais lentamente, sendo seletivamente retidas pela fase estacionária (Caiado, 2018; Collins, Braga e Bonato 1997).

O primeiro registro que se tem da utilização do termo “cromatografia” data do ano de 1906, sendo aplicado pelo botânico russo Mikhael Somenovich Tswett em seus trabalhos acerca da separação de componentes presentes em extratos de folhas e gema de ovo. Entretanto experimentos de separação similares já vinham sendo realizados na Inglaterra e Estados Unidos. Com o decorrer do tempo as técnicas foram sendo aprimoradas por estudiosos e atualmente são conhecidas as técnicas de cromatografia em papel, em camada delgada, por adsorção, por troca iônica, por exclusão, por bioafinidade, gasosa, líquida e supercrítica (Collins, Braga e Bonato 1997).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é um tipo de Cromatografia Líquida e utiliza equipamentos sofisticados que podem ser totalmente automatizados, sua fase móvel é eluída sob pressões elevadas. A CLAE apresenta vantagem sobre suas predecessoras, a cromatografia líquida convencional (CLC) e a cromatografia gasosa (CG), sendo mais rápida que a primeira devido a utilização de bombas e, diferente da segunda, independe da volatilidade e estabilidade térmica da amostra. Além disso, a CLAE é capaz realizar

separações e análises quantitativas de um amplo espectro de substâncias, utilizar detectores que tornam as análises mais precisas e suas limitações se mostram mínimas diante de suas vantagens, de modo que a técnica vem sendo cada vez mais empregada (Collins, Braga e Bonato 1997).

No contexto dos matizes alimentares, Braga (2019) descreve bebidas não alcoólicas como derivados de frutas, vegetais ou extrato, tais como sucos, polpas, concentrados, águas baseadas em plantas e preparados. Conforme dados da ABIR, o setor de bebidas não alcoólicas tem se movimentado para atender os diversos perfis de consumidores, cada vez mais exigentes quanto ao consumo consciente e hábitos saudáveis. Conforme os dados da ABIA, o setor de bebidas não alcoólicas, em 2018, representou 1,13% do PIB brasileiro, produzindo um total de 31 bilhões de litros.

Diante de diversas possibilidades e novas técnicas que são desenvolvidas a cada dia, especulam-se quais abordagens já foram utilizadas? Quais os avanços da técnica na análise de alimentos? Como os diversos detectores vêm sendo utilizados? Como obter melhores resultados?

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Analisar as formas de atuação da cromatografia líquida de alta eficiência na análise de bebidas não alcoólicas de origem vegetal e suas vantagens e desvantagens.

2.2 ESPECÍFICOS

- Descrever estudos sobre a cromatografia líquida de alta eficiência aplicada a bebidas não alcoólicas de origem vegetal;
- Mostrar as principais metodologias aplicadas;
- Salientar a eficácia ou ineficácia das metodologias.

3. METODOLOGIA

Para a construção desta revisão do tipo integrativa realizou-se a busca por artigos e trabalhos diversos publicados na área de cromatografia líquida de alta eficiência aplicada em bebidas não alcoólicas de origem vegetal nas bases de dados SCIELO, GOOGLE ACADÊMICO e demais fontes que se apresentaram úteis na coleta de dados e que compõem este estudo. Somando ao todo 62 fontes científicas selecionadas no período de abril a junho de 2022, sendo excluídas aquelas que não se mostraram compatíveis com o estudo após nova avaliação.

A Tabela 1 elenca as palavras-chaves utilizadas para a pesquisa em inglês e sua tradução em português. É importante ressaltar que elas não foram utilizadas apenas isoladamente, mas muitas vezes correlacionando mais de uma palavra-chave para especificar a busca, sendo priorizados os trabalhos publicados no período de 2016 a 2022 e os anos anteriores quando considerados de importância a informação levantada.

Tabela 1 — Palavras-chave utilizadas para pesquisa.

Palavra-chave em inglês	Tradução para o português
High performance liquid chromatography	Cromatografia líquida de alta eficiência
Plant-based drink	Bebida de origem vegetal
Juice	Suco
Fruit	Fruta
Drink	Bebida
Food analysis methods	Métodos de análise de alimentos
Toxicology	Toxicologia

Fonte: A autora.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Bebidas não alcoólicas de origem vegetal

Conforme Braga (2019) “as bebidas não alcoólicas são produtos a base de frutas, vegetais ou extrato”, havendo 19 (dezenove) categorias regulamentadas pela legislação brasileira “entre sucos, polpas, concentrados, águas baseadas em plantas e preparados”.

A Instrução Normativa nº 49 de 26 de setembro de 2018 do MAPA preconiza que as características físico-químicas dos sucos de frutas devem corresponder a composição das respectivas frutas. De acordo com Scherer, Rybka e Godoy (2008) ácidos orgânicos como ácido ascórbico, cítrico, oxálico, málico e tartárico estão amplamente distribuídos entre as frutas, havendo variações conforme espécie, solo, época de colheita, entre outros.

De acordo com a Revista Cafeicultura (2005), fazem parte da composição química do café: os alcalóides (cafeína, teobromina, teofilina, paraxantina), ácidos orgânicos (ácido clorogênico, cafeico, metilúrico, vanílico, hidroxibenzóico e ferúlico), flavonóides, diterpenos, salicilatos, EDTA, ácido benzóico, trigonelina, óleos essenciais (ácido cinâmico, aldeído cinâmico), vitaminas e minerais.

Os chás são bebidas elaboradas através de infusões de plantas com propriedades medicinais. Estas propriedades se devem à presença de compostos ativos em sua composição química, tais como os flavonoides, catequinas, polifenóis, alcalóides, vitaminas e sais minerais (Braibante *et al*, 2014; Schmitz *et al.*, 2005).

4.2. Cromatografia

O termo cromatografia deriva das palavras gregas “chrom” e “graphe”, que significam respectivamente “cor” e “escrever” e foi utilizado pela primeira vez pelo botânico russo Mikhail Semenovitch Tswett em 1906 em seus trabalhos acerca de suas experiências na separação de componentes de extratos de folhas e gema de ovo utilizando colunas de vidro preenchidas com diversos sólidos finamente divididos e utilizando éter de petróleo para arrastar os componentes (Collins, Braga e Bonato 1997).

Apesar disto, técnicas similares de migração diferencial já vinham sendo utilizadas séculos antes, conforme os estudos de Pacheco *et al* (2015). Os autores relatam que o químico alemão Friedlieb Ferdinand Runge se dedicou ao estudo da separação de corantes em papel de

filtro, sendo este utilizado para a fase estacionária e água para a fase móvel. O trabalho mais antigo de Runge data de 1855.

Ao longo dos anos as técnicas cromatográficas foram aprimoradas, sendo atualmente conhecidas as técnicas em papel, em camada delgada, por adsorção, por troca iônica, por exclusão, por bioafinidade, gasosa, líquida e supercrítica (Collins, Braga e Bonato 1997).

Com as evoluções dos métodos, observa-se a importância do detector para o sistema cromatográfico, sendo seu sistema mais caro e sofisticado, podendo ser universal ou seletivo. Sua função é medir continuamente determinada propriedade física ou físico-química presente na amostra estudada, gerando um sinal logo que recebe o efluente (Collins, Braga e Bonato 1997).

4.2.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

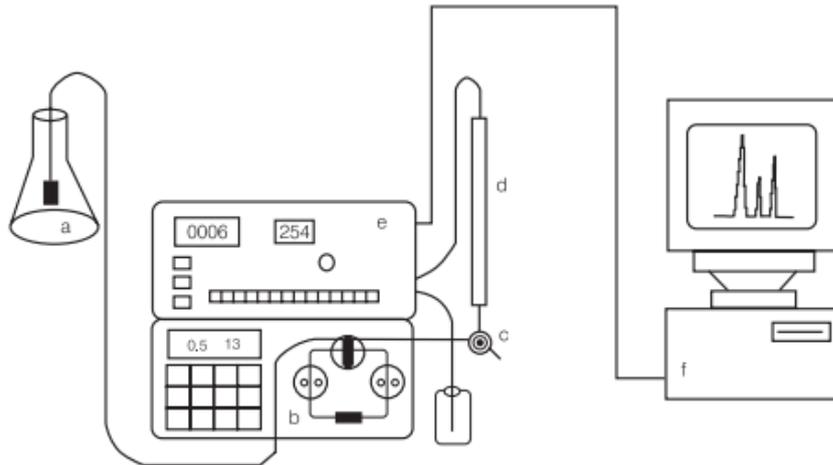
Collins, Braga e Bonato (1997) descrevem a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) como um tipo de Cromatografia Líquida que utiliza equipamentos sofisticados que podem ser totalmente automatizados e cuja fase móvel é eluída sob pressões elevadas. E ressaltam que a técnica está relacionada com alta agilidade, compressão, performance e resolução, sendo ainda uma técnica capaz realizar separações e análises quantitativas de um amplo espectro de substâncias, otimizadas pelo uso detectores, que tornam as análises mais precisas.

O equipamento básico da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Figura 1), conforme explicam Degani *et al.* (1998) e Peres (2002), é composto por um reservatório de fase móvel, uma bomba de alta pressão que proporciona ao sistema vazão contínua sem pulsos para eluição da fase móvel, válvulas de injeção da amostra, coluna cromatográfica que são reaproveitáveis e devem ser de material inerte e resistente, um detector que pode ser de diferentes tipos e um registrador dos dados obtidos.

Os autores afirmam ainda que os solventes utilizados para a fase móvel devem apresentar como características específicas: solubilização da amostra sem que haja interação química entre ambas, apresentar alto grau de pureza ou ser de fácil purificação, isenção de oxigênio ou outros gases dissolvidos, sendo filtradas e desgaseificadas antes do uso, apresentar compatibilidade com o detector empregado, além da polaridade adequada para a separação dos compostos. Já para a fase estacionária, as colunas são preenchidas com sólidos

ou semirígidos que possuam partículas porosas de diferentes diâmetros e suportem pressões de até 350 bar.

Figura 1 - Equipamento básico de CLAE. a) reservatório da fase móvel; b) bomba de alta pressão; c) válvula de injeção; d) coluna; e) detector e f) registrador.



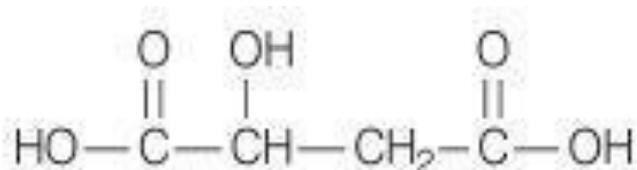
Fonte: Degani *et al.* (1998)

A princípio esta técnica não foi bem aceita devido ao seu elevado custo e dificuldade de adaptação dos usuários de cromatógrafos gasosos. Com a tecnologia de empacotamento das fases estacionárias e redução do tamanho da partícula, as colunas se tornaram cada vez mais eficientes, reduzindo o tempo de análise. A constante evolução dos equipamentos levou a CLAE a ser um método amplamente utilizado atualmente (Pacheco *et al.*, 2015)

4.3. Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos são caracterizados pela presença de um átomo de hidrogênio positivamente polarizado. Os dois principais tipos de ácidos orgânicos são: aqueles com grupamento hidroxila, onde um átomo de hidrogênio ligado a um átomo eletronegativo de oxigênio (ligação O-H) e os ácidos carboxílicos, caracterizado pela presença de um átomo de carbono ligado a um oxigênio por uma ligação simples e a outro oxigênio por uma ligação dupla (McMurry, 2008).

Figura 2 – Estrutura química do ácido málico.



Fonte: adaptado de Fiorucci, Soares e Cavalheiro (2002)

Rodrigues *et al* (2021) analisaram amostras de sucos comerciais objetivando desenvolver um método de quantificação simultânea e diferenciação analítica de ácidos orgânicos. Para isto, a metodologia escolhida baseou-se em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Análise de Componentes Principais (ACP). Foram utilizados diodos como detectores de ácidos orgânicos e coluna de separação para diferenciar os compostos de estudo detectados simultaneamente. Por meio da metodologia empregada foram identificados os ácidos ascórbico, cítrico, málico e tartárico. Com a validação do método, os autores concluem que resultados obtidos revelam ainda que a associação destes métodos apresentou potencial para utilização em controle de qualidade e identificação de adulterações.

Navarro e Giraldo (2018) realizaram estudo com amostras comerciais de bebidas de frutas objetivando a apresentação de um método de separação por CLAE dos ácidos ascórbico, cítrico, málico, fórmico, succínico e tartárico. Para isso foi utilizada uma fase estacionária reversa (C18), uma fase móvel composta por ácido sulfúrico 1,0 mM a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹ com tempo total de corrida de 10,0 minutos e detecção por ultravioleta (UV) a 210 nm. Em suas amostras foram identificados apenas os ácidos cítrico e ascórbico. Os autores consideraram a metodologia adequada, com separação rápida, simultânea e estatisticamente precisa.

Santis *et al* (2019) avaliaram o teor de ácido quínico, málico, cítrico e clorogênicos totais em extrato aquoso de cafés de diferentes processos e cultivares. Para este estudo, a CLAE foi utilizada de acordo com a metodologia descrita por Kitzberger *et al.*, (2016) e Scholz *et al.*, (2013), que utilizaram detector SPD - UV-VIS em 327 nm. Santis *et al* obtiveram como resultado que os teores de cada ácido não diferiram entre si de acordo com o teste de Tukey, demonstrando que as bebidas apresentavam qualidade semelhante neste sentido.

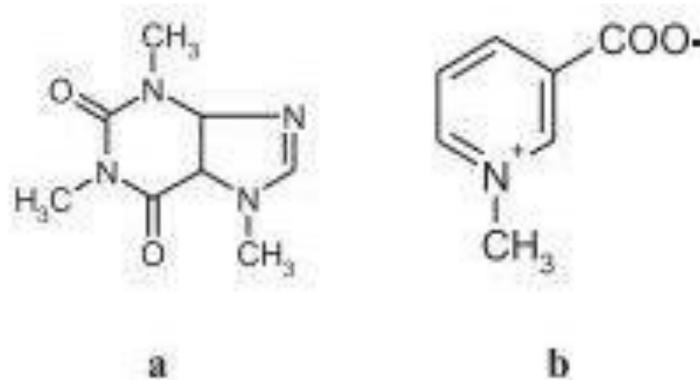
Os diodos utilizados por Rodrigues *et al* (2021) e o UV utilizado por Navarro e Giraldo (2018) se mostraram eficazes para detecção simultânea de ácidos orgânicos, apresentando novas técnicas, ao passo que Santis *et al* demonstrou a replicabilidade de uma metodologia previamente descrita.

4.4. Compostos Bioativos

Os compostos bioativos são componentes benéficos presentes nos alimentos, podendo atuar como antioxidantes, ativando enzimas de desintoxicação no fígado, diminuindo a agregação plaquetária, agindo como bloqueadores de toxinas de micro-organismos ou

inibidores da absorção do colesterol ou ainda eliminando baterias gastrointestinais prejudiciais. Esta classificação engloba diversas substâncias, como carotenóides, flavonóides, esteróis vegetais, ácidos graxos ômega-3 (n-3), sulfetos de alila e dialila, indóis (benzopirróis) e ácidos fenólicos (PENNINGTON, 2002).

Figura 3. Estrutura química da cafeína (a) e trigonelina (b)



Fonte: Monteiro e Trugo (2005)

O estudo realizado por Campina *et al* (2020) demonstra que as técnicas de CLAE e UV-VIS são igualmente eficazes para a quantificação de ácidos clorogênicos totais no café, entretanto também aponta o método UV-VIS como melhor opção para esta determinação devido ao seu menor custo em relação à CLAE.

Abrahão *et al* (2008) com um detector espectrofotométrico UV/visível acoplado ao cromatógrafo com coluna reversa analisou amostras de café integral e descafeinado visando identificar e quantificar trigonelina, ácido clorogênico e cafeína. Os autores concluíram que a cafeína é o único composto bioativo estável, com o passar do tempo, após a extração da bebida.

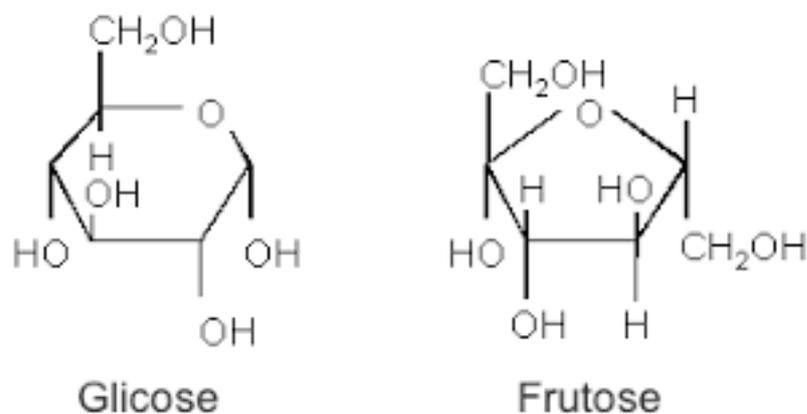
Goulart (2019) utilizou CLAE acoplada ao detector eletroquímico (ECD) para identificar compostos bioativos em chás de *Plectranthus neochilus Schlechter*, popularmente conhecida como “boldo”. O método permitiu a separação simultânea dos ácidos gálico, protocatecuico, vanílico, p-cumárico, cafeico e ferúlico de forma eficiente, sendo observado o pico específico de cada composto e tempo de retenção bem definido.

Os estudos de Campina *et al* (2020) e Abrahão *et al* (2008) apontam a metodologia de CLAE acoplada ao detector espectrofotométrico UV/visível como eficaz na avaliação de compostos bioativos em café e o estudo de Goulart (2019) aponta a técnica CLAE-ECD como eficaz para avaliação de compostos bioativos em chá de boldo.

4.5. Açúcares

Os açúcares redutores são aqueles que possuem grupos carbonílico e cetônico livres, que permitem a redução de cátions. São eles os monossacarídeos, como a glicose e a frutose (Figura 3), e ainda alguns dissacarídeos, como a maltose (formada por duas moléculas de glicose) e a lactose (formada por galactose e glicose). Já os açúcares não redutores são aqueles que não apresentam capacidade de redução sem a prévia hidrólise de sua ligação glicosídica, a exemplo a sacarose (DEMIATE *et al.*,2002).

Figura 4 – Monossacarídeos glicose e frutose



Fonte: Rigui, 2015.

Rodrigues *et al* (2021) em seu estudo com sucos comerciais buscou também uma análise qualitativa e quantitativa dos açúcares presentes em suas amostras utilizando como detector o Índice de Refração (RI) e uma coluna de separação acoplada ao cromatógrafo. A metodologia utilizada permitiu identificação e quantificação de sacarose, glicose e frutose, tendo sua eficiência e eficácia estatisticamente comprovadas.

Nunes (2016) realizou determinação de frutose, glicose, sacarose e açúcares totais através de CLAE, utilizando o IR como detector. A autora observou que a CLAE apresenta resultados significativos para identificação de adição de proporções da fruta e de açúcar, conforme a legislação, possibilitando identificar se foi utilizado apenas o açúcar da fruta (frutose e glicose) ou se foi adicionada sacarose.

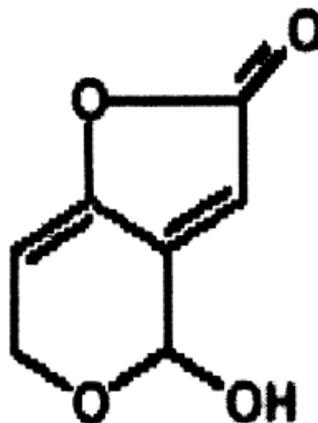
Ambos os estudos apontam o Índice de Refração como detector adequado para acoplar ao cromatógrafo em análises de açúcares.

Dornemann (2016) realizou estudo comparativo entre os métodos de determinação de açúcares redutores e não redutores e concluiu que a CLAE se mostra o mais completo, tendo como única desvantagem relevante o seu custo e operação do cromatógrafo.

4.6. Micotoxinas

De acordo com Saleh e Goktepe (2019) “as micotoxinas são os metabólitos secundários secretados por diferentes tipos de fungos aos quais os humanos podem se expor principalmente por ingestão”. Dentre as micotoxinas há a patulina (figura 3), que pode ser produzida por diferentes fungos, sendo o *Penicillium expansum* o principal produtor. Este fungo infecta diferentes frutas e vegetais, tendo uma preferência por maçãs, nas quais causa a podridão azul.

Figura 5 – Molécula de patulina



Fonte: Welke, 2009

Welke *et al* (2009) ressalta que dentre os muitos métodos propostos para a identificação de patulina em suco de maçã a utilização da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência demonstra maior expressividade. Neste contexto, Sargenti e Almeida (2010) aplicaram CLAE com auxílio de banho ultrassônico para propor um método de identificação de patulina em suco de maçã. O estudo conclui que a metodologia apresentada é eficaz, de fácil replicabilidade, baixo custo e com geração de resíduo químico inferior à extração líquido-líquido, tradicionalmente utilizada.

4.7. Acrilamida

De acordo com a FDA (2022) a acrilamida é uma substância com potencial carcinogênico formada através de reação química natural entre açúcares e asparagina,

(aminoácido presente em alimentos de origem vegetal) que ocorre em temperaturas elevadas, como da cocção ou assamento.

Ignacio (2022) buscou identificar e quantificar acrilamida em amostras de *Coffea arábica* e *Coffea canephora* com diferentes graus de torra. Em suas análises o autor comparou os métodos Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (CLAE-EM). Seus resultados divergiram para os dois métodos, não sendo esclarecido qual seria o mais adequado para a análise.

4.8. Vantagens e Desvantagens da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A tabela 2 abaixo elenca as principais vantagens e desvantagens da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência conforme a revisão bibliográfica realizada.

Tabela 2 – Vantagens e Desvantagens da CLAE

Vantagens	Desvantagens
Permite a realização de análises qualitativas e quantitativas	Não é uma análise de rotina
Abrange um amplo espectro de substâncias	Elevado custo de manutenção
Independente da volatilidade e estabilidade térmica da amostra	Necessita de operador especializado
Permite a associação a outras metodologias (uso de detectores)	
Análises rápidas	
Precisão de resultados	
Permite realização de análises simultâneas	

Fonte: A autora

De acordo com o exposto, observa-se que, dependendo da empresa ou instituição que for realizar as análises, a CLAE apresenta um custo-benefício considerável, em concordância com o exposto por Collins, Braga e Bonato (1997).

5. CONCLUSÃO

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência se desenvolveu amplamente nas últimas décadas e novas técnicas continuam a ser desenvolvidas com o avanço da tecnologia e a busca por resultados cada vez mais rápidos e precisos. A CLAE permite análises laboratoriais diversas e apresenta muitas outras vantagens em relação aos demais métodos conhecidos, de modo que suas desvantagens se tornam menos relevantes dependendo do contexto da empresa ou instituição.

O setor de bebidas não alcoólicas é muito representativo para a economia brasileira. Estes produtos possuem em sua composição uma ampla gama de compostos que compõem suas características de qualidade, sendo necessário atender legislações vigentes e evitar defeitos e contaminantes. Além disso, o consumidor se torna cada vez mais exigente na busca por produtos saudáveis.

Diante das diversas possibilidades de análises por meio da CLAE, esta técnica se mostra eficaz para a avaliação de amostras tão complexas como os matizes alimentares, sendo possível avaliar diferentes compostos simultaneamente, o que permite uma análise panorâmica dos produtos.

6. REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, Sheila Andrade *et al.* Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** [online]. 2008, v. 43, n. 12 Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008001200022>. Acesso em 14 Abr. 2022.

BRAGA, Deyvid Henrique. **Manual regulatório para bebidas não alcoólicas**. Lavras, 2019. 129 p Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

BRAIBANTE, Mara Elisa Fortes *et al.* A Química dos Chás. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 168-175, Agosto 2014.

BRASIL. MAPA. Instrução Normativa n. 49, de 26 de setembro de 2018. **Diário Oficial da União**: Seção 01, 27 de setembro de 2018, ano 2018, p. 4.

CAFEICULTURA. Composição química do café. **Cafeicultura**, Minas Gerais, 12 dez 2005. Disponível em: revistacafeicultura.com.br/?mat=3407. Acesso em: 3 jul. 2022.

CAIADO, Luiz Eduardo. Cromatografia a história de sua criação. 2018. Disponível em: <https://pt.linkedin.com/pulse/cromatografia-hist%C3%B3ria-de-sua-cria%C3%A7%C3%A3o-luiz-caiado-certquim>. Acesso em 19 jun 2022 às 15:55h.

NAVARRO, Yaned Milena Correa; GIRALDO, Juan David Rivera. Evaluación de ácidos orgánicos en refrescos de fruta comerciales por cromatografía líquida de alta eficiencia. **Revista Facultad de Ciencias Básicas**, [S.L.], p. 18-22, 15 abr. 2018. Universidad Militar Nueva Granada. <http://dx.doi.org/10.18359/rfcb.2907>.

DEGANI, A. L.; CASE, Q. L.; VIERA, P. C. Cromatografia um breve ensaio. **Química nova** na escola, São Paulo, n. 7, p. 21-25, 1998.

DEMIATE, Ivo Mottin; WOSIACKI, Gilvan; CZELUSNIAK, Cristina; NOGUEIRA, Alessandro. **Determinação de Açúcares Redutores e Totais em Alimentos**. Comparação entre Método Colorimétrico e Titulométrico. Publicatio UEPG – Exact and Soil Sciences, Agrarian Sciences and Engineering, v. 8, n. 1, p. 65-78, 2002. Disponível em: <http://www.revistas2.uepg.br/index.php/exatas/article/view/772/677>.

DORNEMANN, Guilherme Moraes. **Comparação de métodos para determinação de açúcares redutores e não-redutores**. Porto Alegre, 2016. 47 p Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia química) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, Porto Alegre, 2016.

FDA. **Acrylamide**. FDA. Estados Unidos da América, 2022. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/chemical-contaminants-food/acrylamide>. Acesso em: 26 jun. 2022.

FIORUCCI, Antonio *et al.* Ácidos Orgânicos: dos primórdios da química experimental à sua presença em nosso cotidiano. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 15, Maio 2002.

GOULART, Andressa Rossini. **Quantificação de ácidos fenólicos em chás de *Plectranthus neochilus* por cromatografia líquida de alta eficiência com detector eletroquímico**. 67 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2019.

IGNACIO, Alison Henrique da Silva. **Identificação e quantificação de acrilamida em grãos de café torrado e moído por análise cromatográfica**. 2022. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2022.

MONTEIRO, Mariana Costa; TRUGO, Luiz Carlos. Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 637-641, Abril 2005.

NUNES, Márcia Aparecida. **Caracterização e comparação de néctares de uva comercializados em Minas Gerais**. Minas Gerais, 2016. 96 p Dissertação (Ciência E Tecnologia De Alimentos) - o Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Minas Gerais, 2016.

PACHECO, Sidney, *et al.* História da Cromatografia Líquida. **Revista Virtual de Química**. Volume 7, Número 4, Julho-Agosto 2015. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/869/598>. Acesso em 03 Jul. 2022.

PENNINGTON, Jean A. T. Food composition databases for bioactive food componentes. **Journal Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 15, n. 4, p. 419-434, Aug. 2002.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.

SALEH, I., GOKTEPE, I. (2019). **The characteristics, occurrence, and toxicological effects of patulin.** Food and Chemical Toxicology. [Em linha]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.04.036>. Acesso em 14 Abr. 2022.

RODRIGUES, Deyse Pegorini *et al.* **Simultaneous determination of organic acids and sugars in fruit juices by High performance liquid chromatography:** characterization and differentiation of commercial juices by principal component analysis. *Ciência Rural* [online]. 2021, v. 51, n. 3. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200629>>. Acesso em 14 Abr. 2022.

RIGI, Athos Poli. **Plano de aula investigativa** : carbonização do açúcar. São Paulo, 2015. 6 p. Disponível em: <https://smastr16.blob.core.windows.net/pgibt/2013/04/athos.pdf>. Acesso em: 3 jun. 2022.

SANTIS, Valéria Barbosa Gomes de. Relação entre composição mineral e de ácidos orgânicos em cafés de boa qualidade. In: X SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. 2019. 10 ed, Espírito Santo, 2019.

SCHERER, Rodrigo, RYBKA, Ana Cecília Poloni e GODOY, Helena Teixeira. **Determinação simultânea dos ácidos orgânicos tartárico, málico, ascórbico e cítrico em polpas de acerola, açaí e caju e avaliação da estabilidade em sucos de caju.** *Química Nova* [online]. 2008, v. 31, n. 5, pp. 1137-1140. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500039>. Acesso em 03 Jul, 2022.

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

WELKE, Juliane Elisa *et al.* Ocorrência, aspectos toxicológicos, métodos analíticos e controle da patulina em alimentos. **Ciência Rural** [online]. 2009, v. 39, n. 1, pp. 300-308. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009000100052>. Acesso em 25 jun 2022.