

## Validação de método para análise de aminoácidos em bebidas

Karina Trevisan (IC)\*, Daniel R. Oliveira (TC), Claudinei A. da Silva (PQ), Marina F. M. Tavares (PQ)

\*karinatrevisan1@hotmail.com

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, C.P. 26077, 05513-970, São Paulo, SP.

Palavras Chave :aminoácidos, validação, CZE.

### Introdução

A eletroforese capilar é uma técnica de separação baseada na migração diferencial de compostos iônicos ou ionizáveis após aplicação de um campo elétrico, com separações de alta eficiência, tempos de análise relativamente curtos e volume de amostra injetados da ordem de nanolitros<sup>1</sup>.

Dentre as classes de compostos passíveis de análise por eletroforese capilar estão os aminoácidos. Por a maioria dos aminoácidos não absorverem na região UV do espectro, a análise destes compostos por eletroforese com detecção UV é feita após processo de derivatização. Alternativamente, pode-se adicionar um cromóforo ao eletrólito de corrida e proceder à detecção de forma indireta; um exemplo de cromóforo utilizado é o ácido 3,5-nitrobenzóico (DNB)<sup>2</sup>.

No presente trabalho, foi validado um método para separação e quantificação de 6 aminoácidos: taurina (Tau), triptofano (Trp), glutamina (Gln), fenilalanina (Phe), prolina (Pro) e ornitina (Orn). O método desenvolvido foi usado na quantificação de taurina e fenilalanina em amostras de bebidas energéticas e refrigerantes dietéticos.

### Resultados e Discussão

As análises foram realizadas no equipamento modelo P/ACE™ System MDQ da Beckman Coulter, equipado com um detector UV, controlador de temperatura e com programa de aquisição e tratamento de dados, utilizado um capilar de sílica fundida de 50,2 cm x 50 µm d.i. (40 cm até o detector); os analitos foram injetados hidrodinamicamente, com pressão de 0,5 psi/3s. A tensão aplicada foi de -15 kV, temperatura 25 °C e detecção em 254 nm. A separação dos aminoácidos foi realizada em eletrólito com composição 10 mmol/L DNB, 0,2 mmol/L CTAB (tensoativo catiônico, inversor de fluxo eletrosmótico) e pH = 11,3, ajustado com NaOH (Figura 1).

Foram avaliados diferentes parâmetros analíticos de validação. A linearidade foi obtida a partir de uma curva analítica com 5 valores entre 60,0 e 140 mg/L, observando-se o coeficiente de determinação,  $R^2$ . A precisão foi determinada pela repetibilidade das áreas de pico após 6 corridas; a robustez foi verificada após variação da tensão aplicada e da temperatura com um padrão a 100 mg/L. Os valores encontrados para cada parâmetro analítico para taurina e fenilalanina são mostrados na Tabela 1. O ensaio de recuperação, feito por 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

adição de padrão em amostra branco, refrigerante dopado com fenilalanina, ou água mineral na presença dos aditivos indicados na formulação da bebida energética (exceto taurina), mostrou-se satisfatório.

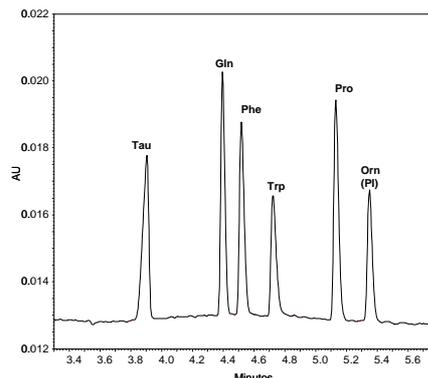


Figura 1. Separação de aminoácidos.

Tabela 1. Valores obtidos para a validação do método para taurina e fenilalanina.

	Taurina	Fenilalanina
Linearidade ( $R^2$ )	0,992	0,9995
Repetibilidade	1,9% CV	2,0% CV
Robustez (+2kV)	0,62% CV	3,3% CV
Robustez (+3°C)	2,2% CV	2,1% CV
LD (mg/L)	9,84	2,47
LQ (mg/L)	32,8	8,22

As amostras de refrigerante e energéticos, objeto de aplicação do método, foram adquiridas no comércio local e informam teor de taurina e fenilalanina de 400 e 330 mg/L, respectivamente, valores comprovados pelo método.

### Conclusões

O método proposto se mostrou adequado para a separação e quantificação dos aminoácidos de interesse<sup>3</sup>, como para a análise de bebidas energéticas (contém taurina) e dietéticas (contém fenilalanina).

### Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup>Tavares, M.F.M.; Quim. Nova, **1996**, 19, 173.

<sup>2</sup>Fujiya, N.M.; Tavares, M.F.M.; J.Sep. Sci., **2003**, 26, 562.