

PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE CITRAL EM QUEIJO *PETIT SUISSE*, ATRAVÉS DA TÉCNICA DE CROMATOGRAFIA GASOSA.

Maurílio V. da ROCHA¹; João Paulo MARTINS²; Jonatas Nathan VELOSO³; Thalita Cristina JUSTIMIANO³; Délcio B. da SILVA³.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um procedimento analítico para determinação da concentração da substância Citral em queijo *Petit Suisse* utilizando como metodologia a técnica de Cromatografia Gasosa. As amostras de queijo *Petit Suisse* adicionadas da substância bioativa Citral, foram tratadas previamente com solvente orgânico e foi determinada a taxa de arraste do analito para cada fase. Utilizou-se o padrão Citral 95% de pureza da marca Aldrich como referencial para a confecção tanto das curvas de calibração do cromatógrafo quanto da taxa de arraste no solvente orgânico n-hexano, previamente selecionado. O resultado da análise cromatográfica da fase orgânica foi correlacionado com a concentração real em amostra previamente preparada com padrão de Citral. Obteve-se um fator multiplicador de 0,2171 para determinação da concentração da substância bioativa citral via cromatografia. O procedimento apresentou precisão, robustez e repetibilidade adequadas.

Palavras-chave: cromatógrafo, lácteo, óleo essencial,

1. INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos, atendendo a uma demanda mundial de ter em seu portfólio somente produtos benéficos à saúde, tem investido em pesquisa e desenvolvimento de novos produtos. Essa categoria de produtos com nutrientes capazes de fornecer benefícios, além da nutrição básica, importantes no combate e prevenção às doenças tem sido chamada de “Alimentos Funcionais” (SALGADO *et al.*, 2017). Assim sendo, torna-se necessário que os compostos bioativos sejam identificados, que tenham sua funcionalidade comprovada e, não menos importante, que também possuam metodologias analíticas certificadas para garantir a qualidade do alimento quanto à presença e concentração do ingrediente bioativo informado no rótulo do produto funcional. Dentre as diversas operações inerentes às indústrias fabris, as atividades relacionadas ao controle de qualidade de produtos e processos tem exigido uma maior atenção dos profissionais envolvidos no gerenciamento da qualidade. Para que sejam atendidos os padrões exigidos pela legislação vigente há que garantir

1 - IFSULDEMINAS – Complexo Agroindustrial - Campus Muzambinho. E-mail: maurilio.rocha@muz.ifsuldeminas.edu.br

2 - IFSULDEMINAS – Departamento de Química - Campus Pouso Alegre. E-mail: joao.martins@ifsuldeminas.edu.br

3 - IFSULDEMINAS – Departamento de Medicina Veterinária - Campus Muzambinho. E-mails: jonatasnathan@hotmail.com; thalitacandido41@gmail.com; delcio.silva@muz.ifsuldeminas.edu.br

níveis cada vez melhores de qualidade de processos e também de eficácia analítica. Como qualidade se refere, dentre outras definições, ao grau de conformidade de um produto específico a um projeto ou especificação, a utilização de técnicas analíticas instrumentais como ferramenta de apoio tem se tornado cada vez mais imprescindível nos laboratórios de análise.

Atualmente os principais alimentos funcionais que são colocados nas gôndolas pertencem aos segmentos de mercado de bebidas, de produtos lácteos, de produtos de panificação e de cereais matinais (SALGADO *et al.*, 2017). O potencial dos produtos lácteos, dentre estes destacando-se os iogurtes e queijos, como matriz para formulações de produtos funcionais se deve a adequadas afinidades físico-químicas, além de ser uma importante alternativa na complementação da linha de produtos ofertados ao mercado pela indústria de laticínios (SAAD *et al.*, 2011). O queijo *Petit suisse* é definido como sendo um “queijo fresco, não maturado, obtido por coagulação do leite com coalho e/ou com enzimas específicas e/ou com bactérias específicas, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias” (BRASIL, 2000).

A cromatografia em coluna, que é uma das mais eficientes técnicas analíticas utilizadas em laboratórios, é uma técnica de separação de componentes de uma amostra, para que os analitos sejam identificados posteriormente, utilizando de detectores como outra técnica instrumental anexada. Os constituintes da amostra inserida no equipamento são distribuídos em duas fases, uma estacionária e outra móvel que movimenta entre ou sobre a fase estacionária. Esse movimento se dá em função tanto da afinidade do analito em relação à composição química da coluna quanto com os tipos de fase móvel e estacionária utilizadas no equipamento. A cromatografia é classificada principalmente de acordo com a fase móvel. Se a fase móvel for um líquido, trata-se da cromatografia líquida. Se a fase móvel for um gás, trata-se da cromatografia gasosa. Se a fase móvel for um fluido supercrítico, trata-se de cromatografia supercrítica. Em função da polaridade das duas fases, a cromatografia pode ainda ser classificada como “de fase normal”, quando a fase estacionária é polar e a fase móvel é apolar, ou “de fase reversa”, quando a fase estacionária é apolar e a fase móvel é polar (VAZ JÚNIOR, 2015).

O Citral, bioativo naturalmente presente em algumas plantas utilizadas como fitoterápicas, é um monoterpeno, cuja nomenclatura na IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry* é 3,7-dimethyl-2,6-octadieno, e é a mistura isomérica de Geranial e Neral (ARAÚJO, 2015). O citral, obtido via extração a vapor em plantas, é comercializado na forma de óleo essencial (ALVIS *et al.*, 2011). Estudos sobre o Citral, demonstraram efeitos benéficos à saúde, atuando como antioxidante no combate aos radicais livres e como anticarcinogênico (RAVINDER *et al.*, 2010). O objetivo deste trabalho foi desenvolver um procedimento analítico para determinação quantitativa do citral em queijo *Petit Suisse*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local: O experimento foi conduzido no laboratório de Instrumentação Química do IFSULDEMINAS – Campus Pouso Alegre.

2.2 Seleção do solvente orgânico a ser utilizado: A seleção do solvente levou em consideração a afinidade deste com o analito Citral; a facilidade operacional e ainda o fator de retenção do analito na fase orgânica. Com essas premissas, selecionou-se o n-Hexano (C₆H₁₄) PA, dens.0,66, para HPLC.

2.3 Preparo das amostras: As amostras utilizadas para desenvolvimento do procedimento analítico foram o Citral 95% Aldrich densidade 0,9031; Óleo Essencial extraído da planta *Cymbopogon citratus*; Queijo *Petit Suisse* sem adição de óleo essencial de capim-limão e Queijos *Petit Suisse* adicionados de óleo essencial como ingrediente funcional contendo o bioativo Citral. Tanto o citral PA quanto o óleo essencial foram injetados sem diluição no sistema cromatográfico. Já o queijo *Petit Suisse*, adicionados ou não de óleo essencial, foram preparados com diluição em água destilada (30 mL) e posteriormente sendo adicionados de n-Hexano (20 mL). O queijo *Petit Suisse* sem adição de óleo essencial foi preparado adicionando 400 µL de citral PA em 20 g de queijo. Essa amostra permaneceu em repouso, em balão de decantação, por 40 min para separação de fases. A fase orgânica foi recolhida e utilizada para injeção no cromatógrafo. O mesmo procedimento de preparação com água e solvente foi utilizado no queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial.

2.4 Configurações do cromatógrafo: O cromatógrafo utilizado foi o modelo CG2010, cromatógrafo a gás, da Shimadzu acoplado com Detector por ionização de chama (FID – *Flame Ionization Detector*) com coluna DB-5 30m x 0,25 mm x 0,25µm modelo 122-5032 da Agilent. Os parâmetros cromatográficos foram ajustados em temperatura de 250°C tanto para o Injetor quanto para o Detector e a coluna foi condicionada para um aquecimento em rampa partindo de 100 °C até 250 °C. A fase móvel foi composta exclusivamente de gás Nitrogênio (N₂) de composição 5.0 (99,999%) com baixo teor de hidrocarbonetos (<0,5 ppm). A vazão do gás de arraste foi ajustada para 30 ml/min e a mistura de gases no detector foi composta por Hidrogênio (H₂) a 40mL.min⁻¹ e Ar Sintético a 400mL.min⁻¹.

2.5 Preparo da curva padrão de Citral: Foram utilizadas 7 soluções de Citral previamente preparadas. Com estas soluções e suas respectivas áreas no cromatograma emitido pelo sistema obteve-se um coeficiente de determinação estatístico (R²) de 0,9927.

2.6 Análise de cromatografia das amostras: As amostras foram filtradas em sistema Chromafil® Xtra - PTFE 45/25 com poro de 0,45 µm e adicionadas em *vials* apropriados para o sistema. A injeção foi realizada automaticamente, com o auxílio do injetor automático AOC20i da Shimadzu, dotado de agulha com septo de silicone. O volume definido para o procedimento foi de 2 µL. A análise dos cromatogramas obtidos foi feita com o auxílio do software *CGMSsolution software* da Shimadzu.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com as áreas dos picos cromatográficos, das amostras envolvidas no desenvolvimento do procedimento, obtidos nos tempos 3,68min e 3,76min, que se referem respectivamente aos compostos Neral e Geranial, pode-se concluir que cada unidade de área (UA) obtida representa uma concentração de $2,27 \times 10^{-5} \mu\text{g}$ na amostra de Citral PA. O óleo essencial, utilizado como ingrediente funcional na fabricação dos queijos Petit Suisse apresentou um resultado de 6.541,2UA e conseqüentemente 7,425% do bioativo Citral ($0,148 \mu\text{g}/2\mu\text{L}$). Nas amostras de queijo *Petit Suisse*, previamente preparadas com água destilada e n-Hexano, foi verificado que 10,478% do citral foi arrastado para a fase orgânica. Com esta metodologia, o fator multiplicador para transformar a unidade de área no cromatograma em mg.L^{-1} é 0,217.

4. CONCLUSÕES

O procedimento desenvolvido se mostrou preciso e repetível, devido à fidelidade do resultado de várias medidas de uma mesma amostra, sob as mesmas condições. Também se mostrou robusto, tendo em vista que os resultados foram pouco afetados por variações secundárias como análises em tempos diferentes, e ainda com alto grau de especificidade, isto é, poucos interferentes na interpretação dos picos no cromatograma.

AGRADECIMENTOS Ao IFSULDEMINAS pelo apoio e incentivo.

REFERÊNCIAS

ALVIS, A.; MARTINEZ, W.; ARRAZOLA, G. Obtención de extractos hidro-alcohólicos de Limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como antioxidante natural. **Información Tecnológica**, Vol 23 N°2, Colômbia, 2011.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos – Teoria e Prática**. Viçosa-MG, Editora UFV, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 53 de 29 de dezembro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo *Petit Suisse*. **Diário Oficial da União**, 2000.

RAVINDER/ K.; PAWAN, K; GAURAV, S; PARAMJOT, K.; GAGAN, S.; APPRAMDEEP, K. Pharmacognostical Investigation of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. **Der Pharmacia Lettre**, vol. 2 n°2. Índia. 2010

SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos – Fundamentos e aplicações Tecnológicas**. São Paulo-SP, Livraria Varela, 2011.

SALGADO, J. **Alimentos Funcionais**. São Paulo-SP, Oficina de Textos, 2017.

VAZ JÚNIOR, S. **Análise Química da Biomassa**. Brasília-DF, EMBRAPA, 2015.