

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 20/04/2020.



Universidade Estadual Paulista - UNESP
Instituto de Química - Araraquara
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



*Desenvolvimento de métodos analíticos para a avaliação da
qualidade de cafés torrados, bebidas energéticas e
medicamentos contendo esteroides anabolizantes utilizando
a espectroscopia de RMN ¹H*

Marcos Vinícius de Moura Ribeiro

Araraquara - SP

2018

Marcos Vinícius de Moura Ribeiro

***Desenvolvimento de métodos analíticos para a avaliação da
qualidade de cafés torrados, bebidas energéticas e
medicamentos contendo esteroides anabolizantes utilizando
a espectroscopia de RMN ¹H***

*Tese de Doutorado apresentada ao
Instituto de Química - Campus de
Araraquara da Universidade Estadual
Paulista, como requisito para obtenção do
título de Doutor em Química, no curso de
Pós-Graduação em Química.*

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Pezza

Araraquara - SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

R484d Ribeiro, Marcos Vinícius de Moura
Desenvolvimento de métodos analíticos para a avaliação da
qualidade de cafés torrados, bebidas energéticas e medicamentos
contendo esteroides anabolizantes utilizando a espectroscopia de
RMN ^1H / Marcos Vinícius de Moura Ribeiro. –
Araraquara : [s.n.], 2018
176 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto
de Química
Orientador: Leonardo Pezza

1. Ressonância magnética nuclear. 2. Adulterações. 3. Bebidas
energéticas. 4. Esteroides anabólicos. 5. Cafés. I. Título.

Elaboração: Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Biblioteca do Instituto de Química, Unesp, câmpus de Araraquara

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Desenvolvimento de métodos analíticos para a avaliação da qualidade de cafés torrados, bebidas energéticas e medicamentos contendo esteroides anabolizantes utilizando a espectroscopia de RMN ^1H "

AUTOR: MARCOS VINÍCIUS DE MOURA RIBEIRO

ORIENTADOR: LEONARDO PEZZA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. LEONARDO PEZZA
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof^a. Dr^a. EDILENE CRISTINA FERREIRA
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. DANILO LUIZ FLUMIGNAN
Campus de Matão / Instituto Federal de São Paulo - IFSP - Matão


Prof. Dr. ARISTEU GOMES TININIS
Campus de Matão / Instituto Federal de São Paulo - IFSP - Matão


Prof^a. Dr^a. ADRIANA VITORINO ROSSI
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNICAMP - Campinas

Araraquara, 20 de abril de 2018

DADOS CURRICULARES

1. Dados Pessoais

Nome: Marcos Vinícius de Moura Ribeiro

Data de Nascimento: 17 de março de 1990

Naturalidade: Picos - PI

Nacionalidade: Brasileiro

Filiação: Pai: Pedro Ribeiro Neto; Mãe: Evangelina Borges de Moura Ribeiro

Nome em citações bibliográficas: RIBEIRO, M. V. M.; DE MOURA RIBEIRO, MARCOS VINÍCIUS; RIBEIRO, MARCOS VINÍCIUS DE MOURA.

Endereço Profissional

Departamentos de Química Analítica e Química Orgânica, Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP. Rua Prof. Francisco Degni, 55, Bairro Quitandinha, CEP: 14800-060 - Araraquara, SP.

2. Formação Acadêmica

2014-Atual: Doutorado em Química

Área de Concentração: Química Analítica, RMN, Desenvolvimento e Validação de Métodos.

Universidade Estadual Paulista - Instituto de Química de Araraquara, Araraquara-SP.

Título da Tese: Desenvolvimento de métodos analíticos para a avaliação da qualidade de cafés torrados, bebidas energéticas e medicamentos contendo esteroides anabolizantes utilizando a espectroscopia de RMN ¹H.

Orientadora: Prof. Dr. Leonardo Pezza.

Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

2012-2014: Mestrado em Química

Área de Concentração: Química Analítica, Desenvolvimento e Validação de Métodos.

Universidade Federal do Piauí - UFPI, Teresina-PI.

Título da Dissertação: Desenvolvimento e validação de métodos para a determinação de ácido fólico em formulações farmacêuticas por espectrofotometria derivativa.

Orientadora: Profa. Dra. Graziella Ciaramella Moita.

Bolsista: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

2008-2011: Licenciatura Plena em Química

Área de Concentração: Química Analítica, Métodos ópticos de análises, Emissão Atômica.

Universidade Federal do Piauí - UFPI, Teresina-PI.

Título da Monografia: Determinação da concentração de cromo em carnes de frango alimentados com ração suplementada.

Orientadora: Profa. Dra. Naise Mary Caldas Silva.

Bolsista: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

3. Produção Bibliográfica

Artigos completos submetidos, aceitos e publicados em periódicos

RIBEIRO, M.V.M.; BORALLE, N.; FELIPPE, L. G.; PEZZA, H.R.; PEZZA, L. ^1H NMR determination of adulteration of anabolic steroids in seized drugs. *Steroids* (Submetido).

RIBEIRO, M.V.M.; BORALLE, N.; PEZZA, H.R.; PEZZA, L. Authenticity assessment of anabolic androgenic steroids in counterfeit drugs by ^1H NMR. *Analytical Methods* v. 10, p. 1140-1150, 2018.

LOPES, F. C. C.; FONSECA, L.; MOITA, G. C.; RIBEIRO, M. V. M. Development and validation of methods using derivative spectrophotometry for determination of dipyrone in pharmaceutical formulations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* v. 9 (6), p. 1000-1010, 2018.

TOCI, A.T.; RIBEIRO, M.V.M.; TOLEDO, P.R.A.B.; BORALLE, N.; PEZZA, H.R.; PEZZA, L. Fingerprint and authenticity of Brazilian roasted coffees by ^1H NMR. *Food Science and Biotechnology*, v. 27 (1), p. 19-26, 2018.

RIBEIRO, M. V. M.; BORALLE, N.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L.; TOCI, A. T. Authenticity of roasted coffee using ^1H NMR spectroscopy. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 57, p. 24-30, 2017.

RIBEIRO, M. V. M.; MELO, I. S.; LOPES, F. C. C.; MOITA, G. C. Development and validation of a method for the determination of folic acid in different pharmaceutical formulations using derivative spectrophotometry. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 52, p. 741-750, 2016.

Resumos publicados em anais de congressos

RIBEIRO, M. V. M.; BORALLE, N.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L.; TOCI, A. T. Authenticity of Roasted Coffee using ^1H NMR Spectroscopy. In: *The Food Factor I Barcelona Conference*, 2016, Barcelona - Espanha.

RIBEIRO, M. V. M.; BORALLE, N.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Avaliação da qualidade de medicamentos contendo esteroides anabolizantes utilizando a espectroscopia de RMN ^1H . In: *18º Encontro Nacional de Química Analítica*, 2016, Florianópolis - SC.

RIBEIRO, M. V. M.; CATELANI, T. A.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L.; TOCI, A. T. Estudo da adulteração de cafés torrados e moídos utilizando a RMN ^1H aliada a quimiometria. In: *18º Encontro Nacional de Química Analítica*, 2016, Florianópolis - SC.

RIBEIRO, M. V. M.; TOCI, A. T.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Evaluation of authenticity by ^1H NMR of brazilian commercial coffee blends. In: *38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 2015, Águas de Lindóia - SP.

RIBEIRO, M. V. M.; MELO, I. S.; LOPES, F. C. C.; MOITA, G. C. Utilização da espectrofotometria derivativa para a determinação de ácido fólico em diferentes formas farmacêuticas. In: *67ª Reunião Anual da SBPC*, 2015, São Carlos - SP.

LOPES, F. C. C.; RIBEIRO, M. V. M.; FONSECA, L.; MOITA, G. C. Desenvolvimento e validação de métodos para a determinação de dipirona em formulações farmacêutica por espectrofotometria derivativa. In: *67ª Reunião Anual da SBPC*, 2015, São Carlos - SP.

ALONSO, G. G.; RIBEIRO, M. V. M.; TOLEDO, P. R. A. B.; MILANI, M. I.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Desenvolvimento de uma metodologia analítica ambientalmente mais benigna na determinação de iodato em sais de cozinha por spot test-reflectância difusa. In: *55º Congresso Brasileiro de Química*, 2015, Goiânia - GO.

ALONSO, G. G.; RIBEIRO, M. V. M.; TOLEDO, P. R. A. B.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Desenvolvimento de metodologia analítica ambientalmente benigna para a determinação de iodato em sal destinado ao consumo humano. In: XXVII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2015, Araraquara - SP.

RIBEIRO, M. V. M.; MELO, I. S.; MOITA, G. C. Desenvolvimento e validação de método para a determinação de ácido fólico em formulações farmacêuticas por espectrofotometria derivativa. In: 17º Encontro Nacional de Química Analítica, 2013, Belo Horizonte - MG.

AGUIAR, R. L. R.; CALDAS, N. M.; RIBEIRO, M. V. M.; MENEZES, E. A. Avaliação do teor de metais em amostras de carne de frango. In: 52º Congresso Brasileiro de Química, 2012, Recife - PE.

RIBEIRO, M. V. M.; ROQUE, A. K. L.; VIEIRA, E. C.; CALDAS, N. M. Determinação da concentração de cromo na carne de frango de corte alimentados com ração suplementada. In: 4º Congresso Norte-Nordeste de Química e 2º Encontro Norte-Nordeste de Ensino de Química, 2011, Natal - RN.

ROQUE, A. K. L.; RIBEIRO, M. V. M.; VIEIRA, E. C. Avaliação da concentração de Fe e Cu em carne de caprinos. In: 4º Congresso Norte-Nordeste de Química e 2º Encontro Norte-Nordeste de Ensino de Química, 2011, Natal - RN.

LIMA, M. G.; RIBEIRO, M. V. M.; MIRANDA, M. O.; OLIVEIRA, A. L. N. F.; CARVALHO, A. D. F. Análise de água do rio Poti, uma atividade de campo como estratégia no ensino de química e educação ambiental. In: 4º Congresso Norte-Nordeste de Química e 2º Encontro Norte-Nordeste de Ensino de Química, 2011, Natal - RN.

MIRANDA, M. O.; RIBEIRO, M. V. M.; LIMA, M. G.; FERNANDES, K. A.; SILVA, F. I.; ALVES, M. J.; OLIVEIRA, A. L. N. F. Proposta de jogos didáticos para um melhor aprendizado no ensino de química. In: 4º Congresso Norte-Nordeste de Química e 2º Encontro Norte-Nordeste de Ensino de Química, 2011, Natal - RN.

ROQUE, A. K. L.; RIBEIRO, M. V. M.; FERNANDES, I. A.; MENEZES, E. A.; VIEIRA, E. C. Avaliação da concentração de Al em água fervida utilizando ebulidor. In: XX Seminário de Iniciação Científica da UFPI, 2011, Teresina - PI.

Participação em Eventos e Congressos

- 1º Escola de RMN da AUREMN, 2017 (São Carlos-SP).
- 18º Encontro Nacional de Química Analítica, 2016 (Florianópolis-SC).
- 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2015 (Águas de Lindóia-SP).
- 67ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 2015 (São Carlos-SP).
- II Workshop: Ano Internacional da Luz - IYL, 2015 (Araraquara-SP).
- I Workshop: Ano Internacional da Luz - IYL 2015, 2015 (Araraquara-SP).
- 1º UNESP NMR Symposium - Recent Advances in NMR Spectroscopy: A Powerful Tool for Fundamental and Applied Research, 2014 (Araraquara-SP).
- I Fórum de Licenciatura da UFPI: Desafios e perspectivas da formação docente, 2012 (Teresina-PI).
- 4º Congresso Norte Nordeste de Química, 2011 (Natal-RN).
- 2º Encontro Norte-Nordeste de Ensino de Química, 2011 (Natal-RN).
- 1º Congresso Químico do Brasil, 2010 (João Pessoa-PB).
- I Encontro de Iniciação à Docência - I ENID, 2010 (Teresina-PI).
- II Encontro dos Estudantes de Química do Piauí, 2010 (Teresina-PI).
- XIX Seminário de Iniciação Científica - UFPI, 2010 (Teresina-PI).
- I Encontro dos Estudantes de Química do Piauí, 2009 (Teresina-PI).

*Aos meus pais Pedro e Evangelina por todo
amor, dedicação e confiança.*

Amo vocês.

Agradecimentos

Quero agradecer, em primeiro lugar, aos meus pais, Pedro e Evangelina por serem meu porto seguro, exemplos a serem seguidos, e por estarem sempre ao meu lado me apoiando em todas as decisões.

Aos meus irmãos Marcelo e Michellys, pela paciência e companheirismo em todos os momentos. Aos meus sobrinhos: Glória Stephanny, Maria Alice e Gabriel pelos momentos de descontração nas horas vagas.

Aos meus familiares de São Paulo, principalmente a minha tia Francisca, por ter sido minha segunda mãe em São Paulo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leonardo Pezza, pelos ensinamentos, confiança e incentivo durante a orientação, que tornaram possível a conclusão de mais essa etapa.

Às professoras Aline Toci e Helena Pezza pela co-orientação e contribuições dadas durante a execução do trabalho.

Aos técnicos de laboratório Nivaldo Boralle e Lucinéia pela imensa ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Ao meu grande amigo Paulo Bueno por todo companheirismo, momentos de descontração, e por me mostrar o significado de amizade verdadeira. Valeu Paulete...(risos)

Aos meus professores da UFPI e UNESP pelos ensinamentos, confiança depositada e pelo incentivo durante toda minha caminhada acadêmica.

Ao professor Aristeu e a Dra. Lucineia pelas sugestões e contribuições dadas no exame de qualificação.

À polícia federal, em especial a juíza Caroline Scofield Amaral, pela disponibilização das amostras de esteroides anabolizante.

Aos meus amigos ZeroOito (UFPI) pela parceria e eterna amizade nesses dez anos, em especial a Mariane, Ana Kledna, Wiury, Cintia, Armenio, Raquel, Suyanne, Amanda e Rusbene.

Aos meus colegas de grupo de pesquisa e companheiros de jornada: Paulo, Eduardo, Maria Isabel, Luís, Tiago, João, Cintia, Dayanna, Michael e Mayara, pelos ensinamentos e amizade

À todos os amigos que fiz em Araraquara, principalmente: Luiz, Ronaldíneo, Tiago, Nerilson, Jader, João Carlos, Igor e Ronaldo. Vocês foram minha família em Araraquara.

Aos amigos de Teresina: Cláudio, Cesinha, Eduardo, Joel e Junior Soares, pelo carinho e amizade. Minhas visitas a Teresina não seriam iguais sem vocês.

Aos membros da banca examinadora por se disponibilizarem gentilmente para a avaliação desse trabalho.

Por fim, ao órgão de fomento à pesquisa CAPES pela bolsa de doutorado concedida.

O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

RESUMO

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma técnica analítica sofisticada e poderosa com uma variedade de aplicações em diferentes campos da pesquisa científica, principalmente na área farmacêutica e alimentícia. Tornou-se nos últimos anos uma das mais potentes e versáteis técnicas para a análise qualitativa e quantitativa tanto para os produtos naturais quanto para as misturas complexas. A autenticidade de alimentos e medicamentos tem sido uma preocupação constante em todo o mundo devido, principalmente, os potenciais riscos à saúde dos consumidores e danos econômicos significativos causados por fraudes e adulterações. O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a autenticidade de cafés torrados, bebidas energéticas e medicamentos contendo esteroides anabolizantes, utilizando a RMN. As medidas espectroscópicas em RMN ^1H foram realizadas em um espectrômetro de 600 MHz. Para as análises de cafés torrados, os métodos desenvolvidos, permitiram a discriminação (origem geográfica e adulteração) de cada tipo de café analisado, além de apontar as principais diferenças em suas composições. Os modelos quimiométricos de análise de componentes principais (PCA) e análise discriminante (DA), foram utilizadas para a diferenciação das amostras analisadas. A rapidez com que os resultados puderam ser obtidos e a não exigência de um pré-tratamento da amostra, evitando alterações na composição da mesma, tornou essa ferramenta (RMN aliada a quimiometria), muito atrativa, apresentando resultados concordantes com os obtidos por metodologia oficial (microscopia óptica). Já para o estudo da autenticidade de esteroides anabolizante, foram avaliadas 52 amostras de diversos princípios ativos. Do total de amostras analisadas, 80% apresentou algum tipo de adulteração (incluindo a presença ou ausência de substâncias não declaradas no rótulo e percentual de ingrediente ativo abaixo do informado na embalagem). Todos os métodos desenvolvidos foram validados de acordo com os parâmetros da ANVISA, e apresentaram limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) variando entre 0,18-0,62 e 0,98-2,35 mg mL⁻¹, respectivamente. Nos ensaios de precisão, o desvio padrão relativo (DPR) intra-dia variou de 1,56 a 4,22% e o DPR inter-dia de 2,19 a 4,73%. Os valores de recuperação variaram de 95,2% a 104,0%. Para as medidas quantitativa foram avaliadas a determinação em RMNq via padrão interno (dimetil sulfona) e por calibração externa (via Electronic Reference to access in vivo Concentrations - ERECTIC 2). A comparação dos resultados obtidos pelo método desenvolvido com os métodos de referência (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE), demonstram que ambos foram estatisticamente concordantes. Por fim, para as análises de bebidas enérgicas, a técnica de RMN foi utilizada para a quantificação simultânea de cafeína e taurina, a fim de verificar, se os níveis no produto final estavam de acordo com os limites legais e com o teor apresentado no rótulo do produto. Das 15 amostras analisadas, 6 apresentaram uma quantidade de taurina inferior a declarada no rótulo do produto, enquanto que para cafeína 5 amostras apresentaram quantidade inferior à declarada na embalagem, estando em desacordo com a legislação brasileira. Os métodos desenvolvidos para determinação de cafeína e taurina foram validados apresentando excelentes resultados e posteriormente foram comparados a métodos disponíveis na literatura.

Palavras-Chaves: RMN ^1H . Autenticidade. Validação. Café. Esteroides anabolizantes. Bebidas energéticas.

ABSTRACT

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy is a sophisticated and powerful analytical technique with a variety of applications in different fields of scientific research, mainly in the pharmaceutical and food sciences. It has become in recent years one of the most powerful and versatile techniques for qualitative and quantitative analysis for both natural products and complex mixtures. The authenticity of food and medicines has been a worldwide concern, mainly due to the potential health risks to consumers and significant economic damage caused by fraud and adulteration. The authenticity of food and medicines has been a worldwide concern, mainly due to the potential health risks to consumers and significant economic damage caused by fraud and adulteration. The main objective of this work was to evaluate the authenticity of roasted coffees, energy drinks and drugs containing anabolic steroids, using the NMR. The ^1H NMR spectroscopic measurements were performed using a 600 MHz spectrometer. For the analysis of roasted coffee, the methods developed allowed the discrimination (geographical origin and adulteration) of each type of coffee analyzed, besides pointing out the main differences in their compositions. The principal component analysis (PCA) and discriminant analysis (DA) models were used to differentiate the analyzed samples. The rapidity with which the results could be obtained and the non-requirement of a pre-treatment of the sample, avoiding changes in the composition of the sample, made this tool (NMR with chemometrics) very attractive, presenting results consistent with those obtained by official methodology (optical microscopy). For the study of anabolic steroid authentication, 52 samples of several active principles were evaluated. Of the total samples analyzed, 80% showed some kind of adulteration (including the presence or absence of undeclared substances on the label and percentage of active ingredient below that reported on the package). All the methods developed were validated according to ANVISA parameters, and showed limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) ranging from 0.18-0.62 to 0.98-2.35 mg mL⁻¹, respectively. In the precision assays, the intra-day relative standard deviation (RSD) ranged from 1.56 to 4.22% and the inter-day RSD from 2.19 to 4.73%. Recovery values ranged from 95.2% to 104.0%. For the quantitative measurements the determination of the qNMR in the internal standard (dimethyl sulfone) and external calibration (by Electronic Reference to access in vivo Concentrations - ERECTIC 2). The comparison of the results obtained by the method developed with the reference methods (High Performance Liquid Chromatography - HPLC), show that both were statistically concordant. Finally, for the analysis of energetic drinks, NMR technique was used for the simultaneous quantification of caffeine and taurine in order to verify if the levels in the final product were in compliance with the legal limits and with the content presented on the label of product. Of the 15 samples analyzed, 6 presented a lower amount of taurine than the one declared on the product label, while for caffeine 5 samples presented less than the declared amount on the packaging, being in disagreement with the Brazilian legislation. The methods developed for determination of caffeine and taurine were validated with excellent results and later compared to methods available in the literature.

Keywords: ^1H NMR. Authenticity. Validation. Coffee. Anabolic steroids. Energy drinks

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Diagrama dos spins no estado degenerado e após a aplicação do campo B_0	25
Figura 2 -	Movimento de giro (spin) em torno do seu próprio eixo	26
Figura 3 -	Comportamento da magnetização resultando (M_0) durante aplicação do pulso B_1	26
Figura 4 -	Magnetização resultante (M_0): no eixo z, em equilíbrio e após o pulso de 90°	33
Figura 5 -	Sequência de pulsos da pré-saturação, $D1$ = tempo de espera da relaxação, $P1$ = largura do pulso e AQ = tempo de aquisição	35
Figura 6 -	Representação de um gráfico de <i>scores</i> e <i>loadings</i>	39
Figura 7 -	Principais regiões produtoras de cafés do Brasil	48
Figura 8 -	Impressão digital do espectro de RMN 1H (600 MHz) de café torrado brasileiro (<i>Gourmet</i>), em D_2O	60
Figura 9 -	Estruturas de alguns dos compostos identificados nos cafés	61
Figura 10 -	Principais funções discriminantes, com valores de centróide (Y_1 e Y_2)	64
Figura 11 -	<i>Fingerprints</i> em RMN 1H de café torrado (A), cevada (B), soja (C), milho (D) e cascas de café (E)	68
Figura 12 -	Principais sinais marcadores de adulterantes obtidos por sobreposição com o <i>fingerprint</i> de café torrado: cevada (A), soja (B), milho (C), e casca de café (D)	69
Figura 13 -	Intensidades de sinais marcadores de acordo com a porcentagem de adulterantes: cevada (A) e soja (B)	70
Figura 14 -	Sobreposição dos espectros de RMN 1H para o café puro torrado (A), milho (B), e uma amostra de café comercial (C)	71
Figura 15 -	Gráfico de <i>scores</i> obtidos pela $PC1$ X $PC2$	72
Figura 16 -	Gráficos de <i>loadings</i> obtidos pela $PC1$ e $PC2$	73
Figura 17 -	Estrutura das moléculas: (A) - ciclopentanoperhidrofenantreno, (B) – colesterol	78
Figura 18 -	Estrutura da molécula de testosterona	78
Figura 19 -	Espectro de RMN 1H , 600 MHz, do Propionato de testosterona (PRT), em $CDCl_3$	91
Figura 20 -	Espectro de RMN 1H , 600 MHz, da Metiltestosterona (MET), em $CDCl_3$...	91
Figura 21 -	Espectro de RMN 1H , 600 MHz, do Acetato de metenolona (MEL), em $CDCl_3$	92
Figura 22 -	Espectro de RMN 1H , 600 MHz, da Oxandrolona (OXA), em $CDCl_3$	93
Figura 23 -	Espectro de RMN 1H , 600 MHz, do Decanoato de Nandrolona (DEN), em $CDCl_3$	93
Figura 24 -	Espectro de RMN 1H , 600 MHz, do Estanozolol (ESZ), em $CDCl_3$	94
Figura 25 -	Espectros RMN 1H , 600 MHz, amostra PRT-1 e PRT padrão, em $CDCl_3$...	95

Figura 26 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras: PRT-1, PRT-2, PRT-3, PRT-4, em CDCl ₃	96
Figura 27 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras UNT (1, 2, 3 e 4), em CDCl ₃	97
Figura 28 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostra ENT-1 e padrão de PRT, em CDCl ₃	98
Figura 29 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras OXA (1, 2, 3, 4, 5) e padrão de OXA, em CDCl ₃	99
Figura 30 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras OXA (6, 7, 8, 9) e padrão de OXA, em CDCl ₃	101
Figura 31 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras OXA (6, 7, 8, 9) e padrão de ESZ, em CDCl ₃	102
Figura 32 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras TRA (1, 2, 3, 4), em CDCl ₃	103
Figura 33 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras MDT (1, 2, 3, 4), em CDCl ₃	104
Figura 34 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras DEN (1, 2), em CDCl ₃	105
Figura 35 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras DEN-2, ENT-1 e óleo de amendoim, em CDCl ₃	106
Figura 36 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras CIT (1, 2, 3, 4, 5), em CDCl ₃	108
Figura 37 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras PRD (1, 2, 3, 4), em CDCl ₃	109
Figura 38 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras OXI (1, 2, 3, 4), em CDCl ₃	110
Figura 39 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostra DURA-1, em CDCl ₃	111
Figura 40 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostra DURA-2, em CDCl ₃	112
Figura 41 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras DURA (2, 3, 4 e 5), em CDCl ₃	113
Figura 42 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras ESZ (1, 2, 3, 4, 5 e 6) e padrão de ESZ, em CDCl ₃	114
Figura 43 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostra ESZ-7 e padrão de ESZ, em CDCl ₃	115
Figura 44 -	Espectros RMN ¹ H, 600 MHz, amostras ESZ (7, 8, 9 e 10), em CDCl ₃	116
Figura 45 -	Espectro de RMN ¹ H DOSY 2D, 600 MHz, amostras ESZ (7, 8, 9 e 10), em CDCl ₃	117
Figura 46 -	Identificação em RMN ¹ H dos compostos encontrados nas amostras de ESZ (7, 8, 9 e 10)	118
Figura 47 -	Cromatograma obtido por CG-EM da amostra de ESZ-7	120
Figura 48 -	Cromatograma obtido por CG-EM da amostra de Viagra®	120
Figura 49 -	Espectro de massa da amostra de ESZ-7 (T _R =60,77) referente ao fenilpropionato de nandrolona.....	121
Figura 50 -	Espectro de massa da amostra de ESZ -7 (T _R =70,15) referente ao citrato de sildenafil.....	121
Figura 51 -	Espectros de RMN ¹ H, 600 MHz, das misturas de esteróides anabolizantes (padrões) e dimetil sulfona (padrão), CDCl ₃	123

Figura 52 -	Curvas analíticas para a determinação por CLAE: A) propionato de testosterona, B) oxandrolona, C) decanoato de nandrolona, D) estanozolol. Número de repetições para cada ponto da curva (n = 3)	131
Figura 53 -	Curvas analíticas para as determinações em RMN: A) estanozolol, B) oxandrolona, C) propionato de testosterona, D) decanoato de nandrolona. Número de repetições para cada ponto da curva (n = 3)	132
Figura 54 -	Cromatogramas das amostras por CLAE: A) OXA-1, B) OXA-6, C) ESZ-1, D) ESZ-2, E) PRT-1, F) DEN-1	133
Figura 55 -	Cromatogramas das amostras por CLAE: A) DURA-1 e B) DURA-2	134
Figura 56 -	Estrutura da molécula de cafeína	141
Figura 57 -	Estrutura da molécula de taurina	142
Figura 58 -	Perfil em RMN ¹ H, 600 MHz, da amostra 11 (energético), em D ₂ O	148
Figura 59 -	Perfil em RMN ¹ H, 600 MHz, das amostras 12 e 1 (energéticos), em D ₂ O, pH 11	149
Figura 60 -	Espectros em RMN ¹ H, 600 MHz, referentes a variação do sinal da taurina com o aumento do pH	150
Figura 61 -	Espectros em RMN ¹ H, 600 MHz, referentes a variação do sinal da cafeína com o aumento do pH	151
Figura 62 -	Espectros em RMN ¹ H, 600 MHz, amostra 1, D ₂ O, em pH 11	152
Figura 63 -	Curvas analíticas obtidas no ensaio de linearidade, A - taurina e B - cafeína. Número de repetições para cada ponto da curva (n = 3)	153
Figura 64 -	Curvas analíticas para a determinação por CLAE: A) Cafeína B) Taurina. Número de repetições para cada ponto da curva (n = 3)	158
Figura 65 -	Cromatogramas da amostra 4 por CLAE: A) Cafeína e B) Taurina	159

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Propriedades espectrais dos padrões internos em diferentes solventes	30
Tabela 2	- Lista das amostras (<i>Coffea arabica</i>) analisadas	55
Tabela 3	- Lista de amostras de cafés comerciais e adulterantes analisados	56
Tabela 4	- Coeficientes não padronizados das três funções discriminantes canônicas para classificação de origens geográficas	65
Tabela 5	- Desempenho da classificação geral (em %) do modelo DA, com e sem validação cruzada (VC), para estudo de diferenciação de quatro estados brasileiros (grandes produtores de café)	67
Tabela 6	- Comparação da metodologia ABIC com a metodologia proposta	74
Tabela 7	- Resumo das principais características dos esteroides anabolizantes amplamente utilizados no mercado nacional	77
Tabela 8	- Amostras de esteroides anabolizantes analisadas	84
Tabela 9	- Valores de deslocamento químico em RMN ¹ H dos compostos encontrados nas amostras de ESZ (7, 8, 9, 10)	118
Tabela 10	- Parâmetros analíticos de calibração para a quantificação dos analitos	125
Tabela 11	- Análise de precisão intra-dia e inter-dia para os métodos proposto	126
Tabela 12	- Resultados dos testes de exatidão para as amostras em três níveis de concentração (50, 100 e 150%)	127
Tabela 13	- Valores obtidos no estudo da robustez	128
Tabela 14	- Comparação do Método 1 (determinação direta), Método 2 (curva analítica) e Método 3 (métodos comparativos por CLAE)	130
Tabela 15	- Comparação entre métodos de determinação direta (Método 1) e pelo método via ERETIC 2 (Método 4)	136
Tabela 16	- Métodos da literatura para determinação de cafeína e taurina em bebidas energéticas	144
Tabela 17	- Amostras de bebidas energéticas analisadas	146
Tabela 18	- Análise de precisão intra-dia e inter-dia para o método proposto	154
Tabela 19	- Resultados dos testes de exatidão para as amostras de energéticos em três níveis de concentração (50, 100 e 150%)	155
Tabela 20	- Valores obtidos no estudo da robustez nas amostras de energéticos	156
Tabela 21	- Comparação dos métodos para a determinação de cafeína e taurina em bebidas energéticas	157

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABIC** - Associação Brasileira da Indústria de Café
- ACQs** - Ácidos cafeoilíquicos
- AIDS** - Acquired Immunodeficiency Syndrome
- ANVISA** - Agência Brasileira de Vigilância Sanitária
- AQ** - Tempo de aquisição
- CAF** - Cafeína
- CDCl₃** - Clorofórmio deuterado
- CDPC** - Conselho Deliberativo de Política do Café
- CG-EM** - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
- CIT** - Cipionato de Testosterona
- CLAE** - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- D₂O** - Água deuterada
- D1** - Tempo de espera da relaxação
- DA** - Discriminant Analysis
- DEN** - Decanoato de nandrolona
- DMSO** - Dimetilsulfóxido
- DMSO₂** - Dimetil Sulfona
- DNFB** - 2,4-dinitrofluorobenzeno
- DOC** - Denominação de Origem Controlada
- DOSY** - Diffusion Ordered Spectroscopy
- DPR** - Desvio padrão relativo
- DURA** - Sais de testosterona
- EAA** - Esteróide anabolizante androgênico
- ENT** - Enantato de testosterona
- ERETIC** - Electronic reference to access in vivo concentrations
- ESZ** - Estanozolol
- FID** - Free Induction Decay
- HIV** - Human Immunodeficiency Virus
- ICH** - International Conference on Harmonisation
- ICO** - International Coffee Organization
- IGP** - Indicação Geográfica Protegida

LB - Lorentzian broadening
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MCR - Material de Referência Certificado
MDT - Metandrostenolona
MEL - Metenolona
MET - Metiltestosterona
NIST - National Institute of Standards and Technology
NS - Número de scans
OMS - Organização Mundial de Saúde
OXA - Oxandrolona
OXI - Oximetolona
P1 - Largura do pulso
PCA - Principal Component Analysis
PDR - Propionato de drostonolona
PF - Polícia Federal
PQC - Programa de Qualidade do Café
PRT - Propionato de testosterona
PULCON - Pulse length based concentration determination
PVA - Preto, Verde e Ardido
PVDF - Fluoreto de polivinilideno
RDC - Resolução de Diretoria Colegiada
RG - Receiver Gain
RMN - Ressonância Magnética Nuclear
RMNq - Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa
SW - Spectral Window
S/R - Sinal/Ruído
T1 - Tempo de relaxação longitudinal
T2 - Tempo de relaxação transversal
TAU - Taurina
TD - Número de pontos
TMS - Tetrametilsilano
TRA - Acetato de trembolona
TSP - Ácido 3-(trimetilsilil)-propiónico-d4 deuterado
UNT - Undecanoato de testosterona

SUMÁRIO

1. Introdução	22
2. Referencial Teórico	25
2.1 Fundamentos da Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	25
2.2 Determinação quantitativa por RMN (RMNq)	28
2.3 Parâmetros necessários para análises em RMNq	33
2.4 Quimiometria na análise de alimentos	38
2.5 Validação Analítica	40
3. Objetivos	45
3.2 Geral	45
3.3 Específicos	45
Capítulo I - Avaliação da autenticidade de cafés torrados	46
1. Introdução	47
1.1 Produção de café	47
1.2 Qualidade e autenticidade de cafés torrados	48
1.3 Adulteração de cafés torrados	50
1.4 Análise quimiométrica e RMN ¹ H	53
2. Objetivos	54
3. Parte Experimental	54
3.1 Amostras analisadas	54
3.2 Torrefação das amostras	57
3.3 Extração das Amostras	57
3.4 Análise por RMN ¹ H	58
3.5 Análise Estatística	58
4. Resultados e Discussão	59
4.1 Trabalho 1: Impressão digital de cafés torrados brasileiros	59
4.2 Trabalho 2: Avaliação da adulteração de cafés torrados	67
5. Conclusões	74
Capítulo II - Autenticidade de medicamentos contendo esteroides anabolizantes	75
1. Introdução	76
1.1 Anabolizantes	76
1.2 Aspectos químicos dos esteroides anabolizantes	78
1.3 Falsificação de medicamentos.....	80
1.4 Métodos de determinação de medicamentos falsificados	81
2. Objetivos	83
3. Parte Experimental	83
3.1 Padrões e reagentes	83

3.2 Amostras	83
3.3 Análises por RMN ¹ H.....	85
3.4 Preparação de amostras comerciais.....	85
3.5 Determinação quantitativa (RMNq) e validação analítica	86
3.6 Métodos Comparativos	88
4. Resultados e Discussão	90
4.1 Caracterização em RMN ¹ H dos analitos	90
4.2 Análise das amostras comerciais.....	94
4.3 Obtenção das figuras de mérito.....	122
4.4 Determinação Quantitativa.....	129
5. Conclusões	137
Capítulo III - Determinação quantitativa de cafeína e taurina em bebidas energéticas	138
1. Introdução	139
1.1 Bebidas Energéticas	139
1.2 Cafeína	141
1.3 Taurina	142
1.4 Métodos de determinação de taurina e cafeínas em bebidas energéticas	143
2. Objetivos	145
3. Procedimento Experimental	145
3.1 Reagentes e Padrões analíticos.....	145
3.2 Preparo das amostras para análises por RMN ¹ H.....	145
3.3 Amostras Analisadas	146
3.4 Análises por RMN ¹ H.....	146
3.5 Métodos Comparativos	147
3.6 Validação Analítica	147
4. Resultados e Discussão	148
4.1 Variação do deslocamento químico em função do pH.....	150
4.2 Validação Analítica	152
4.3 Métodos comparativos	157
5. Conclusão.....	160
4. Conclusões Gerais	161
5. Referências Bibliográficas	162

1. Introdução

Nos últimos anos, as indústrias farmacêuticas e alimentícias deram saltos gigantescos em seu faturamento, diariamente são lançados novos produtos no mercado, mas associado a esse grande aumento, um mercado cresce em paralelo, o das falsificações e/ou adulterações.

A abertura de fronteiras em mercados comuns, a globalização e os diversos acordos comerciais entre nações têm facilitado o comércio de produtos e serviços no mundo. Mas apesar dessas atividades apresentarem grande vantagens econômicas, a abertura de fronteiras também tem permitido o aumento da comercialização de medicamentos falsificados, gerando um problema que atinge tanto países desenvolvidos quanto países em desenvolvimento. Conseqüentemente, a falta de fiscalização e os desequilíbrios existentes na distribuição de renda e no acesso aos cuidados de saúde, contribuem para a expansão desse comércio ilícito (1,2).

A utilização de medicamentos falsificados ou de baixa qualidade pode afetar o tratamento de pacientes, como por exemplo, a utilização de medicamento sem o princípio ativo ou com a quantidade diferente do desejado, influenciando diretamente no controle de suas enfermidades (3). A situação pode se torna ainda pior, quando os produtos são adulterados ou deliberadamente formulados utilizando substâncias industriais tóxicas, que não podem ser usadas na fabricação de medicamentos, causando danos ainda mais sérios aos pacientes ou até mesmo leva-los à morte (1,4).

Desde 1948, com a criação da Organização Mundial da Saúde (OMS), existe a preocupação com a qualidade dos medicamentos no âmbito internacional. Em vários documentos, são expressas recomendações para prevenção e combate a medicamentos falsificados, incluindo a cooperação interinstitucional e internacional (4,5).

Segundo o relatório divulgado pela OMS em 2015, um em cada dez medicamentos comercializados em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento é de qualidade inferior ou falsificado. Esse número é bastante alarmante e chama atenção para um mercado clandestino que movimenta cerca de US\$ 30 bilhões por ano no mundo (4). No Brasil, as apreensões de remédios irregulares são frequentes, mas nenhum órgão envolvido nessa questão, como a Polícia Federal (PF) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), sabe informar qual o tamanho do problema (6). O mesmo relatório, afirma ainda que 19% dos produtos farmacêuticos vendidos no país são ilegais: ou são falsos ou adulterados, ou seja, ineficazes, ou roubados, o que na maioria dos casos quer dizer que podem ter sido violados ou estão com

validade vencida, por exemplo (6). O uso de tais produtos pode agravar doenças e levar à morte. Além do fato de alguns componentes utilizados no preparo dessas formulações adulteradas, provocarem alergias graves (4).

No Brasil, esses medicamentos, são facilmente vendidos em feiras, bancas de ambulantes, pela internet e, inclusive, nas farmácias. Esses produtos chegam ao Brasil vindos do Paraguai, China e Índia. Podendo vir prontos para o consumo ou ainda na matéria-prima (princípio ativo), que é manipulada em estabelecimentos clandestinos, sem a menor condição de higiene e qualidade, geralmente elaborada na dose errada, ou até mesmo, misturados a outras substâncias (7).

Segundo a ANVISA, entre os principais medicamentos falsificados vendidos no Brasil estão os esteroides anabolizantes, os medicamentos para disfunção erétil e os remédios para emagrecer. Mas também são encontradas falsificações de medicamentos para doenças no coração, hipertensão, malária e antibióticos (3,7). Vale ressaltar, que a falsificação de medicamentos e sua comercialização, tem se tornado uma atividade extremamente lucrativa, com risco menor de repressão pelas autoridades policiais em comparação ao tráfico de drogas e estando ligadas diretamente a organizações criminosas internacionais (8).

No setor alimentício as preocupações com a qualidade dos produtos vêm associada ao aumento do consumo de alimentos industrializados, visto que esses produtos perdem suas características morfológicas originais, desde a sua produção até o consumo final, exigindo testes de identificação cada vez mais rápidos, confiáveis e reprodutíveis. A confirmação da autenticidade de um alimento é necessária para assegurar o valor do produto, o cumprimento dos regulamentos de rotulação, e proteger o consumidor de fraudes, que criam competições desleais e distorções de mercado, podendo ter impacto na economia local ou global. Além disso as fraudes são prejudiciais aos consumidores por razões relacionadas a intolerância ou alergia, religião, objeções étnicas ou culturais e requerimentos legais (9).

As fraudes em alimentos ocorrem por atuação de fatores circunstanciais ou deliberadamente provocados sobre os alimentos descaracterizando-nos do seu ponto de vista comercial ou biológico, tornando-os passíveis de restrições legais quanto ao consumo. As alterações, adulterações e falsificações realizadas com a finalidade de obtenção de maiores lucros, tratam-se de artifícios usados sem o consentimento oficial, resultado da modificação de um produto, visando lucro ilícito e que não fazem parte de uma prática universalmente aceita. Estas operações procuram ocultar ou mascarar as más condições estruturais e sanitárias dos produtos e atribuir-lhes requisitos que não possuem (10,11).

As adulterações em produtos alimentícios podem ocorrer de diversas formas, dentre elas, enzimáticas, químicas e microbiológicas. Podendo ser resultado de negligência, ignorância, desleixo ou desobediência às normas estabelecidas para o setor durante a fase de processamento, conservação ou armazenamento dos produtos (11,12).

É perceptível que as adulterações e/ou falsificações estão ficando cada vez mais sofisticadas, de difícil percepção, principalmente para os consumidores que são os maiores prejudicados com essas práticas. Conseqüentemente, um controle de qualidade seguro e confiável em produtos e/ou matérias-primas provenientes das indústrias farmacêuticas e alimentícias, tornam as análises de seus ativos e constituintes extremamente importantes para os fabricantes, bem como para os usuários desses produtos. Além disso, antes da comercialização, esses produtos precisam adquirir seus devidos registros perante aos órgãos regulamentadores e, para isso, uma série de estudos físico-químicos e toxicológicos devem ser realizados. Dentre os ensaios necessários, encontra-se a determinação quali/quantitativa do teor do ativo e de seus constituintes, sejam na matéria-prima ou no produto final (13).

Neste contexto, o desenvolvimento de novos métodos analíticos, ganha uma enorme importância na indústria, com a visão sempre voltada para o aumento da produtividade analítica, mantendo máxima seletividade, exatidão, precisão e rapidez. Dentre as técnicas instrumentais, que ganham bastante espaço atualmente na pesquisa sobre a qualidade de medicamentos e produtos alimentícios se destaca a Ressonância Magnética Nuclear (RMN), já que se trata de uma ferramenta espectroscópica poderosa para investigação de propriedades químicas e físicas em misturas complexas, tendo aplicação tanto na elucidação estrutural de compostos orgânicos como na sua quantificação, permitindo o desenvolvimento de métodos, rápidos, simples e não destrutivos. O uso de técnicas de pulsos e artifícios instrumentais, como a supressão de sinais, têm sido utilizado para melhorar a resolução dos espectros por RMN e eliminar problemas de sobreposição de sinais nas análises que apresentem espectros complexos. (14,15).

Nesse trabalho é proposto o uso da espectroscopia de RMN nas análises da autenticidade de cafés, anabolizantes e bebidas energéticas. Devido à natureza diversificada das amostras analisadas, dividiu-se o trabalho em três capítulos, que serão abordados nos tópicos seguintes.

5. Conclusão

O método desenvolvido apresentou excelentes resultados para os parâmetros de validação, possibilitando a determinação simultânea de cafeína e taurina em um único espectro, com um preparo de amostra simples e eficiente. A técnica utilizou poucos reagentes, menor tempo de análise e baixa geração de resíduos, apresentando-se como uma boa alternativa para análises de controle de qualidade de bebidas energéticas existentes na literatura. Das 15 amostras analisadas, 6 apresentaram uma quantidade de taurina inferior a declarada no rótulo do produto, enquanto que para cafeína 5 amostras apresentaram quantidade inferior à declarada no rótulo do produto, estando em desacordo com a legislação brasileira. Os resultados confirmam a necessidade no desenvolvimento de métodos seguros e confiáveis, que informa os consumidores sobre a qualidade dos produtos que estão consumindo.

4. Conclusões Gerais

No capítulo I, ficou evidente que a utilização da impressão digital em RMN ^1H de cafés torrados, proporcionou um método simples e eficaz para distinguir os produtos de acordo com as regiões de origem, apesar dos padrões de ressonância complexos, devido aos numerosos compostos presentes no café. Os cafés foram claramente diferenciados, mesmo considerando a proximidade de regiões produtoras como São Paulo e o sul de Minas Gerais e seus climas e altitudes similares. O método desenvolvido ofereceu ainda um grande potencial para ser usado no controle de qualidade relacionado ao grau de torra de cafés. Já os resultados obtidos para avaliação da adulteração de cafés comerciais, mostraram-se altamente eficientes para determinação dos adulterantes (milho, soja, cevada e casca de café), sendo-os bastante concordantes com os resultados obtidos por metodologia oficial (microscopia óptica).

No capítulo II, a técnica de RMN mostrou ser uma ferramenta poderosa para avaliar a qualidade das amostras contendo esteróides anabolizantes, já que um único espectro foi necessário para obter informações valiosas sobre as estruturas dos compostos presentes, tanto na verificação da autenticidade das substâncias analisadas como na detecção de impurezas. A quantificação por RMN ^1H (usando padrão interno ou ERETIC 2) dos ingredientes ativos puderam ser realizadas sem o uso de padrões de referência dos analitos, que são frequentemente caros e difícil obtenção, oferecendo assim uma vantagem em relação aos métodos cromatográficos e fotométricos. Houve constatação de adulteração em 80% das amostras analisadas, conforme indicado pela ausência do analito, presença de outras substâncias não indicadas no rótulo ou conteúdo do ingrediente ativo abaixo do valor indicado na embalagem, evidenciando o caráter duvidoso desses medicamentos. Esses resultados confirmaram a importância do desenvolvimento de novas metodologias analíticas para esse tipo de aplicação.

No capítulo III, os resultados mostraram a facilidade da técnica de RMN na determinação simultânea de cafeína e taurina em bebidas energéticas, onde seus resultados puderam ser validados de acordo com os parâmetros da ANVISA, e mostraram que diversas amostras analisadas apresentaram resultados discordantes com o indicado no rótulo.

Por fim, avaliando todos os resultados obtidos, fica evidente que as potencialidades da técnica de RMN deveriam ser mais exploradas para análises de produtos farmacêuticos e alimentícios, já que seu uso mais frequente e difundido poderia contribuir significativamente para a melhora da qualidade desses produtos, evitando perdas econômicas graves.

5. Referências Bibliográficas

- 1 OSÓRIO, A. C. P. **Regulação e controle de qualidade como salvaguardas à falsificação de medicamentos. estudo de caso: métodos analíticos aplicáveis a substâncias anticancerígenas**. 2009. Dissertação (Mestrado em Metrologia), Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- 2 VIRELLA, D. Falsificação de medicamentos . Uma realidade à qual é preciso dar atenção. **Acta Pediátrica Portuguesa**, v. 39, n. 1, p. 46–50, 2008.
- 3 ANVISA. **Medicamentos falsificados**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultadodebusca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2861443&_101_type=content&_101_groupId=2>. Acesso em: 18/2/2018.
- 4 WHO. **Substandard and falsified medical products**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs275/en/>>. Acesso em: 27/12/2017.
- 5 OMS. **Diretrizes para o desenvolvimento de medidas de combate a medicamentos falsificados**, 2005. Disponível em: <http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=influenza-a-h1n1-081&alias=183-medicamentos-falsificados-diretrizes-para-desenvolvimento-medidas-combate-3&Itemid=965>. Acesso em: 18/2/2018.
- 6 CARVALHO, P. **O perigo dos remédios falsos**. Disponível em: <<https://istoe.com.br/o-perigo-dos-remedios-falsos/>>. Acesso em: 18/2/2018.
- 7 RODRIGUES, A. **O Brasil na rota dos remédios falsificados**. Disponível em: <https://istoe.com.br/437819_O+BRASIL+NA+ROTA+DOS+REMEDIOS+FALSIFICADOS/>. Acesso em: 29/11/2017.
- 8 HURTADO, R.L.; LASMAR, M.C. Medicamentos falsificados e contrabandeados no Brasil: panorama geral e perspectivas de combate ao seu consumo. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 4, p. 891–895, 2014.
- 9 LAMAS, M.T. **Métodos analíticos para a identificação de espécies animais**. 2011. Trabalho de conclusão de curso (Graduação de medicina veterinária), Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- 10 CHARRO, F. **Fraudes em alimentos**. Disponível em: <<https://www.infoescola.com/curiosidades/fraudes-em-alimentos/>>. Acesso em: 29/11/2017.
- 11 KOLICHESKY, M.B. Fraudes em Alimentos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 12, n. 1, 1994.
- 12 MACHADO, G. **Tipos de fraude em alimentos - Myleus Food Safety**. Disponível em: <<http://foodsafety.myleus.com/tipos-de-fraude-em-alimentos/>>. Acesso em: 29/11/2017.
- 13 SANTOS, M.S.; COLNAGO, L.A. Validation of quantitative ¹H NMR method for the analysis of pharmaceutical formulations. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 324–330, 2013.
- 14 TAVARES, L.A.; FERREIRA, A.G. Análises quali- e quantitativa de cafés comerciais via ressonância magnética nuclear. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 911–915, 2006.

- 15 HOLZGRABE, U.; DEUBNER, R.; et al. Quantitative NMR spectroscopy—Applications in drug analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 5, p. 806–812, 2005.
- 16 LEITE, L.L.B. **Aplicação da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear quantitativa de Hidrogênio (RMNq-1H) na área farmacêutica e afins**. 2013. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- 17 SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; et al. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2006.
- 18 SILVA, C.B.S. **Processamento de Sinais de Ressonância Magnética Nuclear Usando Classificador Neural para Reconhecimento de Carne Bovina**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica), Universidade de São Paulo, São Carlos.
- 19 PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; et al. **Introdução à espectroscopia**. Cengage Learning, 2012.
- 20 MAZZOLA, A.A. **Princípios Físicos da Ressonância Magnética**. Disponível em: <http://rle.dainf.ct.utfpr.edu.br/hipermidia/images/documentos/Principios_fisicos_da_ressonancia_magnetica.pdf>. Acesso em: 19/2/2018.
- 21 GAMA, L.D.A. **Uso de ressonância magnética nuclear sem solvente deuterado (No-D NMR) para análise de cocaína e seus adulterantes**. 2014. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- 22 GERARD, T. **Chapter 5 : NMR proton: principles**. Disponível em: <<http://brussels-scientific.com/?p=6273>>. Acesso em: 14/3/2018.
- 23 AMARAL, F.M. **Uso da espectroscopia de ressonância magnética nuclear de 1H e 13C na análise de uvas e vinhos brasileiros**. 2005. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- 24 KOLLAR, S.R.M. **Desenvolvimento de Metodologias Analíticas para Análise de Biodiesel por RMN - 1H 1,40 T**. 2012. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade de Brasília, Brasília.
- 25 COSTA, R.A.R. **Determinação do grau de pureza de amostra de crack apreendidas no Estado da Paraíba por RMNq-1H e CLAE-DAD**. 2012. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- 26 JUNGnickel, J.L.; FORBES, J.W. Quantitative Measurement of Hydrogen Types by Intergrated Nuclear Magnetic Resonance Intensities. **Analytical Chemistry**, v. 35, n. 8, p. 938–942, 1963.
- 27 HOLLIS, D.P. Quantitative Analysis of Aspirin, Phenacetin, and Caffeine Mixtures by Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 35, n. 11, p. 1682–1684, 1963.
- 28 HOLZGRABE, U. Quantitative NMR spectroscopy in pharmaceutical applications. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, v. 57, n. 2, p. 229–240, 2010.
- 29 BHARTI, S.K.; ROY, R. Quantitative 1H NMR spectroscopy. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 5–26, 2012.
- 30 ALMEIDA, N.S. **Desenvolvimento e validação de metodologias para quantificação**

de 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) em comprimidos de ecstasy por cromatografia gasosa e ressonância magnética nuclear. 2016. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade de Brasília, Brasília.

31 MALZ, F.; JANCKE, H. Validation of quantitative NMR. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 5, p. 813–823, 2005.

32 GAMA, L.A.; MERLO, B.B.; et al. No-deuterium proton NMR (No-D NMR): A simple, fast and powerful method for analyses of illegal drugs. **Microchemical Journal**, v. 118, p. 12–18, 2015.

33 RUNDLOF, T.; MATHIASSEN, M.; et al. Survey and qualification of internal standards for quantification by ¹H NMR spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 52, n. 5, p. 645–651, 2010.

34 SINGH, S.; ROY, R. **The application of absolute quantitative ¹H NMR spectroscopy in drug discovery and development.** 2016.

35 AKOKA, S.; BARANTIN, L.; et al. Concentration Measurement by Proton NMR Using the ERETIC Method. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 13, p. 2554–2557, 1999.

36 WALKER, G.S.; RYDER, T.F.; et al. Validation of Isolated Metabolites from Drug Metabolism Studies as Analytical Standards by Quantitative NMR. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 39, n. 3, p. 433–440, 2011.

37 MONAKHOVA, Y.B.; KOHL-HIMMELSEHER, M.; et al. Determination of the purity of pharmaceutical reference materials by ¹H NMR using the standardless PULCON methodology. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 100, p. 381–386, 2014.

38 FRANK, O.; KREISSL, J.K.; et al. Accurate determination of reference materials and natural isolates by means of quantitative ¹H NMR spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 12, p. 2506–2515, 2014.

39 HONG, R.S.; HWANG, K.H.; et al. Survey of ERETIC2 NMR for quantification. **Journal of the Korean Magnetic Resonance Society**, v. 17, n. 2, p. 98–104, 2013.

40 WATANABE, R.; SUGAI, C.; et al. Quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy based on PULCON methodology: Application to quantification of invaluable marine toxin, okadaic acid. **Toxins**, v. 8, n. 10, p. 1–9, 2016.

41 COSTA, L.F.; ALCANFOR, S.K.B.; et al. Development and Validation of Furosemide Quantification Method By ¹H NMR. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 5, p. 1683–1692, 2016.

42 FERREIRA, L. **Estudos de Quantificação do Fármaco furosemida por Ressonância Magnética Nuclear.** 2014. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade de Brasília, Brasília.

43 BRIAN. **Bloch Equation Simulation.** Disponível em: <<http://mrsrl.stanford.edu/~brian/bloch/>>. Acesso em: 13/3/2018.

44 PAULI, G.F.; JAKI, B.J.; et al. Quantitative ¹H NMR: Development and Potential of a Method for Natural Products Analysis. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 1, p. 133–139, 2005.

- 45 PAULI, G.F.; GÖDECKE, T.; et al. Quantitative ^1H NMR. Development and Potential of an Analytical Method: An Update. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 4, p. 834–851, 2012.
- 46 SCHOENBERGER, T.; LACHENMEIER, D.W.; et al. **Guide to NMR Method Development and Validation – Part I: Identification and Quantification**. Brussels: 2014.
- 47 MARTENS, H. Quantitative Big Data: where chemometrics can contribute. **Journal of Chemometrics**, v. 29, n. 11, p. 563–581, 2015.
- 48 CONSONNI, R.; CAGLIANI, L.R.; et al. NMR based geographical characterization of roasted coffee. **Talanta**, v. 88, p. 420–426, 2012.
- 49 BRESCIA, M.; MONFREDA, M.; et al. Characterisation of the geographical origin of buffalo milk and mozzarella cheese by means of analytical and spectroscopic determinations. **Food Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 139–147, 2005.
- 50 FINOTELLO, C.; FORZATO, C.; et al. NMR quantification of 16-O-methylcafestol and kahweol in *Coffea canephora* var. robusta beans from different geographical origins. **Food Control**, v. 75, p. 62–69, 2017.
- 51 AGIOMYRGIANAKI, A.; PETRAKIS, P. V.; et al. Detection of refined olive oil adulteration with refined hazelnut oil by employing NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis. **Talanta**, v. 80, n. 5, p. 2165–2171, 2010.
- 52 BOFFO, E.F. **Utilização da RMN aliada a métodos quimiométricos na análise de méis e aguardentes**. 2009. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- 53 RITOTA, M.; CASCIANI, L.; et al. HRMAS-NMR spectroscopy and multivariate analysis meat characterisation. **Meat Science**, v. 92, n. 4, p. 754–761, 2012.
- 54 CONSONNI, R., CAGLIANI, L.R. Nuclear Magnetic Resonance and Chemometrics to Assess Geographical Origin and Quality of Traditional Food Products. In: **Advances in food and nutrition research**. v.59.2010, p. 87–165.
- 55 FERNANDES, A.P. **Emprego de estratégias quimiométricas para a diferenciação de alimentos de acordo com as formas de produção**. 2006. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- 56 JOLLIFFE, I.T.; CADIMA, J. Principal component analysis: a review and recent developments. **Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences**, v. 374, n. 2065, p. 20150202, 2016.
- 57 CUNHA, F.F. **Análise Discriminante (Módulo I)**. Disponível em: <http://www.ufpa.br/heliton/arquivos/aplicada/seminarios/M1_06_Analise_Discriminante_Franciely.pdf>. Acesso em: 21/2/2018.
- 58 NOBREGA, D.M. **Análise discriminante utilizando o software SPSS**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Estatística), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.
- 59 ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2003. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/349509/Consolidado%2Bde%2Bnormas%2BCEBIO.pdf/3122249b-48cb-47aa-be78-76f3129a62ba>>. Acesso em: 27/12/2017.

- 60 ICH - International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005. Disponível em: <https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf>. Acesso em: 27/12/2017.
- 61 INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf>. Acesso em: 5/3/2018.
- 62 PEREIRA, A.; SCHESHOWITSCH, K.; et al. Validação de metodologia analítica para quantificação de piroxicam em cápsulas de gelatina por espectrofotometria ultravioleta (UV). **Visão Acadêmica**, v. 8, n. 2, p. 1518–5192, 2007.
- 63 RIBEIRO, M.V.M.; MELO, I.S.; et al. Development and validation of a method for the determination of folic acid in different pharmaceutical formulations using derivative spectrophotometry. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 4, p. 741–750, 2016.
- 64 RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.
- 65 CURRIE, L.A. International Recommendations Offered on Analytical Detection and Quantification Concepts and Nomenclature: Preamble, in Validation of Analytical Methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 391, p. 103–134, 1999.
- 66 ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café. Disponível em: <<http://abic.com.br/estatisticas/exportacoes/exportacao-brasileira-de-cafe-em-graos/>>. Acesso em: 19/12/2017.
- 67 CEFAFÉ - Conselho dos Exportadores de Café do Brasil. Disponível em: <<http://www.cecafe.com.br/dados-estatisticos/exportacoes-brasileiras/>>. Acesso em: 19/12/2017.
- 68 TAVARES, K.M. **Deteção de adulteração em café riado torrado e moído por espectroscopia no infravermelho e análise sensorial**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos), Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- 69 BESSA, F.;TADEU, L. **Café é a segunda bebida mais consumida no Brasil**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2574254/cafe-e-a-segunda-bebida-mais-consumida-no-brasil>>. Acesso em: 1/2/2018.
- 70 ICO - International Coffee Organization. Disponível em: <<http://www.ico.org/>>. Acesso em: 1/2/2018.
- 71 FERREIRA, L.T.; SANTOS, J.; AIACHE, E. **Produção mundial de café do ano-safra 2016/17 contabiliza 154 milhões de sacas**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/26030763/producao-mundial-de-cafe-do-ano-safra-201617-contabiliza-154-milhoes-de-sacas>>. Acesso em: 1/2/2018.
- 72 CLARKE, R.J.; MACRAE, R. **Coffee Chemistry**. London, UK: Elsevier Applied Science Publishers, 1985.
- 73 MONAKHOVA, Y.B.; RUGE, W.; et al. Rapid approach to identify the presence of Arabica and Robusta species in coffee using ¹H NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 182, p. 178–184, 2015.

- 74 NASSER, P. **As principais regiões produtoras de café do Brasil**. Disponível em: <<http://www.mexidodeideias.com.br/industria/as-principais-regioes-produtoras-de-cafe-do-brasil/>>. Acesso em: 1/2/2018.
- 75 TOCI, A.T.; RIBEIRO, M.V.M.; et al. Fingerprint and authenticity roasted coffees by ¹H-NMR: the Brazilian coffee case. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 19–26, 2018.
- 76 RIBEIRO, M.V.M.; BORALLE, N.; et al. Authenticity of roasted coffee using ¹H NMR spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 57, p. 24–30, 2017.
- 77 THOMAZIELLO, R.A. **A classificação do café**. Disponível em: <<http://revistacafeicultura.com.br/?mat=55115>>. Acesso em: 2/2/2018.
- 78 MARTINEZ, H.E.P.; CLEMENTE, J.M.; et al. Nutrição mineral do cafeeiro e qualidade da bebida. **Revista Ceres**, v. 61, n. suppl, p. 838–848, 2014.
- 79 RISTICEVIC, S.; CARASEK, E.; et al. Headspace solid-phase microextraction–gas chromatographic–time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. **Analytica Chimica Acta**, v. 617, n. 1–2, p. 72–84, 2008.
- 80 FREITAS, A.M.C.; PARREIRA, C.; et al. The Use of an Electronic Aroma-sensing Device to Assess Coffee Differentiation—Comparison with SPME Gas Chromatography–Mass Spectrometry Aroma Patterns. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, n. 5, p. 513–522, 2001.
- 81 KNYSAK, D. Volatile compounds profiles in unroasted *Coffea arabica* and *Coffea canephora* beans from different countries. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 444–448, 2017.
- 82 TOLEDO, P.R.A.B.; PEZZA, L.; et al. Relationship Between the Different Aspects Related to Coffee Quality and Their Volatile Compounds. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 4, p. 705–719, 2016.
- 83 OLIVEIRA, R.C.S.; OLIVEIRA, L.S.; et al. Evaluation of the potential of SPME-GC-MS and chemometrics to detect adulteration of ground roasted coffee with roasted barley. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 3, p. 257–261, 2009.
- 84 RIBEIRO, B.B.; MENDONÇA, L.L.; et al. Parâmetros qualitativos do café provenientes de diferentes processamentos na pós-colheita. **Revista Agrarian**, v. 4, n. 14, p. 273–279, 2011.
- 85 ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso coffee: the science of quality**. Italy: Elsevier Academic Press, 2005.
- 86 MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.mpsp.mp.br/portal/page/portal/cao_consumidor/legislacao/leg_produtos_humanos/IN-16-2010-MAPA.pdf>. Acesso em: 3/2/2018
- 87 TOCI, A.T.; FARAH, A.; et al. Coffee Adulteration: More than Two Decades of Research. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 83–92, 2016.
- 88 TOCI, A.T.; FARAH, A. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. **Food Chemistry**, v. 153, p. 298–314, 2014.

- 89 TOCI, A.T.; FARAH, A. Volatile compounds as potential defective coffee beans' markers. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1133–1141, 2008.
- 90 BANDEIRA, R.D.C.C.; TOCI, A.T.; et al. Composição volátil dos defeitos intrínsecos do café por CG/EM-headspace. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 309–314, 2009.
- 91 FARAH, A.; MONTEIRO, M.C.; et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, v. 98, n. 2, p. 373–380, 2006.
- 92 FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S.; et al. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, v. 90, n. 1–2, p. 89–94, 2005.
- 93 FERRAZ, M.B.M.; FARAH, A.; et al. Kinetics of ochratoxin A destruction during coffee roasting. **Food Control**, v. 21, n. 6, p. 872–877, 2010.
- 94 GIL-SERNA, J.; GONZÁLEZ-SALGADO, A.; et al. ITS-based detection and quantification of *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus westerdijkiae* in grapes and green coffee beans by real-time quantitative PCR. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, n. 2–3, p. 162–167, 2009.
- 95 PIMENTA, C.J.; VILELA, E.R. Composição microbiana e ocratoxina a no café (*Coffea arabica* L.) submetido a diferentes tempos de espera antes da secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1315–1320, 2003.
- 96 SHEARS, P. Food fraud – a current issue but an old problem. **British Food Journal**, v. 112, n. 2, p. 198–213, 2010.
- 97 CAI, T.; TING, H.; et al. Novel identification strategy for ground coffee adulteration based on UPLC–HRMS oligosaccharide profiling. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1046–1049, 2016.
- 98 TAVARES, K.M.; PEREIRA, R.G.F.A.; et al. Espectroscopia no infravermelho médio e análise sensorial aplicada à detecção de adulteração de cafés torrado por adição de cascas de café **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1164–1168, 2012.
- 99 PAULI, E.D.; BARBIERI, F.; et al. Detection of ground roasted coffee adulteration with roasted soybean and wheat. **Food Research International**, v. 61, p. 112–119, 2014.
- 100 CAGLIANI, L.R.; PELLEGRINO, G.; et al. Quantification of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* var. *robusta* in roasted and ground coffee blends. **Talanta**, v. 106, p. 169–173, 2013.
- 101 ALVES, R.C.; CASAL, S.; et al. Discrimination between arabica and robusta coffee species on the basis of their tocopherol profiles. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 295–299, 2009.
- 102 GONZÁLEZ, A.G.; PABLOS, F.; et al. HPLC analysis of tocopherols and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters. **Food Chemistry**, v. 73, n. 1, p. 93–101, 2001.
- 103 GARRETT, R.; VAZ, B.G.; et al. Arabica and Robusta Coffees: Identification of Major Polar Compounds and Quantification of Blends by Direct-Infusion Electrospray Ionization–Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 17, p. 4253–4258, 2012.
- 104 PIZARRO, C.; ESTEBAN-DÍEZ, I.; et al. Mixture resolution according to the

- percentage of robusta variety in order to detect adulteration in roasted coffee by near infrared spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 585, n. 2, p. 266–276, 2007.
- 105 BRIANDET, R.; KEMSLEY, E.K.; et al. Discrimination of *Arabica* and *Robusta* in Instant Coffee by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometrics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 1, p. 170–174, 1996.
- 106 SPANIOLAS, S.; MAY, S.T.; et al. Authentication of Coffee by Means of PCR-RFLP Analysis and Lab-on-a-Chip Capillary Electrophoresis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 20, p. 7466–7470, 2006.
- 107 EL-ABASSY, R.M.; DONFACK, P.; et al. Discrimination between Arabica and Robusta green coffee using visible micro Raman spectroscopy and chemometric analysis. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1443–1448, 2011.
- 108 ASSAD, E.D.; SANO, E.E.; et al. Identificação de impurezas e misturas em pó de café por meio de comportamento espectral e análise de imagens digitais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 211–216, 2002.
- 109 MENEZES Jr, J.B.F.; BICUDO, B.A.A. Sobre um método microscópico para contagem de cascas no café em pó. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 11, n. 1–2, p. 13–48, 1951.
- 110 WINKLER-MOSER, J.K.; SINGH, M.; et al. Detection of Corn Adulteration in Brazilian Coffee (*Coffea arabica*) by Tocopherol Profiling and Near-Infrared (NIR) Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 49, p. 10662–10668, 2015.
- 111 DOMINGUES, D.S.; PAULI, E.D.; et al. Detection of roasted and ground coffee adulteration by HPLC by amperometric and by post-column derivatization UV-Vis detection. **Food Chemistry**, v. 146, p. 353–362, 2014.
- 112 TAVARES, K.M.; LIMA, A.R.; et al. Free tocopherols as chemical markers for Arabica coffee adulteration with maize and coffee by-products. **Food Control**, v. 70, p. 318–324, 2016.
- 113 CORREIA, R.M.; TOSATO, F.; et al. Portable near infrared spectroscopy applied to quality control of Brazilian coffee. **Talanta**, v. 176, p. 59–68, 2018.
- 114 REIS, N.; FRANCA, A.S.; et al. Discrimination between roasted coffee, roasted corn and coffee husks by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 715–722, 2013.
- 115 EBRAHIMI-NAJAFABADI, H.; LEARDI, R.; et al. Detection of addition of barley to coffee using near infrared spectroscopy and chemometric techniques. **Talanta**, v. 99, p. 175–179, 2012.
- 116 REIS, N.; FRANCA, A.S.; et al. Quantitative evaluation of multiple adulterants in roasted coffee by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS) and chemometrics. **Talanta**, v. 115, p. 563–568, 2013.
- 117 LACHENMEIER, D.W.; FRANK, W.; et al. Quality control of beer using high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate analysis. **European Food Research and Technology**, v. 220, n. 2, p. 215–221, 2005.
- 118 ERIKSON, U.; STANDAL, I.B.; et al. Use of NMR in fish processing optimization: a

- review of recent progress. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 50, n. 7, p. 471–480, 2012.
- 119 TZOUROS, N.E.; Arvanitoyannis, I.S. Agricultural Produces: Synopsis of Employed Quality Control Methods for the Authentication of Foods and Application of Chemometrics for the Classification of Foods According to Their Variety or Geographical Origin. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 41, n. 4, p. 287–319, 2001.
- 120 GIL, A.M.; DUARTE, I.F.; et al. Characterization of the aromatic composition of some liquid foods by nuclear magnetic resonance spectrometry and liquid chromatography with nuclear magnetic resonance and mass spectrometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 488, n. 1, p. 35–51, 2003.
- 121 LOLLI, M.; BERTELLI, D.; et al. Classification of Italian Honeys by 2D HR-NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 4, p. 1298–1304, 2008.
- 122 DEFERNEZ, M.; COLQUHOUN, I.J. Factors affecting the robustness of metabolite fingerprinting using ¹H NMR spectra. **Phytochemistry**, v. 62, n. 6, p. 1009–17, 2003.
- 123 SCAA - Specialty Coffee Association of America. Disponível em: <<http://www.scaa.org/?page=resources%26d=cupping-protocols/>>. Acesso em: 16/2/2018.
- 124 DIRINCK, M.; VAN LEUVEN, I. V.; DIRINCK, J.P. **Analytical flavour characterisation and classification of arabica and robusta coffees from different origins**. Disponível em: <<http://asic-cafe.org/content/analytical-flavour-characterisation-and-classification-arabica-and-robusta-coffees-different>>. Acesso em: 20/12/2017
- 125 MONDELLO, L.; COSTA, R.; et al. Reliable characterization of coffee bean aroma profiles by automated headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry with the support of a dual-filter mass spectra library. **Journal of separation science**, v. 28, n. 9–10, p. 1101–9, 2005.
- 126 COSTA FREITAS, A.; MOSCA, A. Coffee geographic origin — an aid to coffee differentiation. **Food Research International**, v. 32, n. 8, p. 565–573, 1999.
- 127 MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 547–554, 1999.
- 128 TOCI, A.; FARAH, A.; et al. Efeito do processo de descafeinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés arábica e robusta antes e após a torração. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 965–971, 2006.
- 129 WEI, F.; FURIHATA, K.; et al. ¹³C NMR-Based Metabolomics for the Classification of Green Coffee Beans According to Variety and Origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 40, p. 10118–10125, 2012.
- 130 WEI, F.; FURIHATA, K.; et al. Two-Dimensional ¹H–¹³C Nuclear Magnetic Resonance (NMR)-Based Comprehensive Analysis of Roasted Coffee Bean Extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 17, p. 9065–9073, 2011.
- 131 TRUGO, L.C.; MACRAE, R. Chlorogenic acid composition of instant coffees. **The Analyst**, v. 109, n. 3, p. 263, 1984.
- 132 VASCONCELOS, A.L.S.; FRANCA, A.S.; et al. A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 26–32, 2007.

- 133 SPEER, K.; KÖLLING-SPEER, I. The lipid fraction of the coffee bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 201–216, 2006.
- 134 RAHMAN, A.; CHOUDHARY, M.I. **Solving problems with NMR spectroscopy**. Academic Press, 1996.
- 135 RIBEIRO, M.V.M.; PEZZA, H.R.; PEZZA, L.; TOCI, A.T. **Evaluation of authenticity by H NMR of brazilian commercial coffee blends**. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/38ra/cdrom/resumos/T0995-1.pdf>>. Acesso em: 22/2/2018..
- 136 GUO, F.; SHAO, J.; et al. Automated and sensitive determination of four anabolic androgenic steroids in urine by online turbulent flow solid-phase extraction coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry: A novel approach for clinical monitoring and doping control. **Talanta**, v. 125, p. 432–438, 2014.
- 137 DESHMUKH, N.; HUSSAIN, I.; et al. Analysis of anabolic steroids in human hair using LC–MS/MS. **Steroids**, v. 75, n. 10, p. 710–714, 2010.
- 138 CARTAS, S.T.; ALVAREZ-COQUE, M.C.G.; et al. Determination of anabolic steroids in pharmaceuticals by liquid chromatography with a microemulsion of sodium dodecyl sulfate and pentanol as mobile phase. **Analytica Chimica Acta**, v. 302, n. 2–3, p. 163–172, 1995.
- 139 CARMO, E.C.; BUENO Jr, C.R.; et al. O papel do esteroide anabolizante sobre a hipertrofia e força muscular em treinamentos de resistência aeróbia e de força. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, n. 3, p. 212–217, 2011.
- 140 CASAVANT, M.J.; BLAKE, K.; et al. Consequences of Use of Anabolic Androgenic Steroids. **Pediatric Clinics of North America**, v. 54, n. 4, p. 677–690, 2007.
- 141 ROCHA, F.L.; ROQUE, F.R.; et al. Esteróides anabolizantes : mecanismos de ação e efeitos sobre o sistema cardiovascular. **O Mundo da Saúde**, v. 31, n. 4, p. 470–477, 2007.
- 142 NEVES, D.B.J. **Avaliação das falsificações e adulterações de medicamentos e suplementos alimentares com esteroides anabolizantes e cafeína, e desenvolvimento de métodos analíticos**. 2016. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade de Brasília, Brasília.
- 143 SILVA, P.R.P.; DANIELSKI, R.; et al. Esteróides anabolizantes no esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 8, n. 6, p. 235–243, 2002.
- 144 SENDON, M. **Tabela de Esteróides e Anabolizantes**. Disponível em: <<https://dicasdemusculacao.com.br/tabela-esteroides-anabolizantes/>>. Acesso em: 24/2/2018.
- 145 CUNHA, T.S.; CUNHA, N.S.; et al. Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 2, p. 165–179, 2004.
- 146 MOORADIAN, A.D.; MORLEY, J.E.; et al. Biological Actions of Androgens. **Endocrine Reviews**, v. 8, n. 1, p. 1–28, 1987.
- 147 SHAHIDI, N.T. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. **Clinical Therapeutics**, v. 23, n. 9, p. 1355–1390, 2001.
- 148 KICMAN, A.T. Pharmacology of anabolic steroids. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 3, p. 502–521, 2008.

- 149 LISE, M.L.Z.; SILVA, T.S.G.; et al. O abuso de esteróides anabólico-androgênicos em atletismo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, n. 4, p. 364–370, 1999.
- 150 MATOS, A.P. **Perigo! Um bomba chama anabolizante**. Disponível em: <http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/124/057a060_anabolizantes.pdf>. Acesso em: 24/2/2018.
- 151 DUBOSE, M.M. Criminal Enforcement of Intellectual Property Laws in the Twenty-First Century. **Columbia Journal of Law & the Arts**, v. 29, p. 481, 2005.
- 152 ABRAHIN, O.; FÉLIX SOUZA, N.S.; et al. Anabolic–androgenic steroid use among Brazilian women: an exploratory investigation. **Journal of Substance Use**, v. 22, n. 3, p. 246–252, 2017.
- 153 NEVES, D.B.J.; CALDAS, E.D. GC–MS quantitative analysis of black market pharmaceutical products containing anabolic androgenic steroids seized by the Brazilian Federal Police. **Forensic Science International**, v. 275, p. 272–281, 2017.
- 154 JUSTA NEVES, D.B.; MARCHETTI, R.G.A.; et al. Incidence of anabolic steroid counterfeiting in Brazil. **Forensic Science International**, v. 228, n. 1–3, p. 81–83, 2013.
- 155 CORTES, P.N.S. **Contrafacção na indústria farmacêutica**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Fernando Pessoa, Porto.
- 156 COSTA, C.R.A. **Falsificação de medicamentos: um breve panorama e estudo de caso**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Vigilância Sanitária), Fundação Oswaldo Cruz.
- 157 LUIZA, V.L., OLIVEIRA, M.A., et al. Pharmaceutical Policy in Brazil. In: **Pharmaceutical Policy in Countries with Developing Healthcare Systems**. Cham: Springer International Publishing, 2017, p. 123–149.
- 158 BANCROFT, A.; REID, P.S. Concepts of illicit drug quality among darknet market users: Purity, embodied experience, craft and chemical knowledge. **International Journal of Drug Policy**, v. 35, p. 42–49, 2016.
- 159 PROKUDINA, E.; PRCHALOVÁ, J.; et al. Analysis of anabolic androgenic steroids by direct analysis in real time ionization with time-of-flight mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 392, p. 28–33, 2015.
- 160 BRITO, D.; NEVES, J.; et al. Title: GC-MS quantitative analysis of black market pharmaceutical products containing anabolic androgenic steroids seized by the Brazilian Federal Police GC-MS quantitative analysis of black market pharmaceutical products containing anabolic androgenic st. **Forensic Science International**, v. 275, p. 272–281, 2017.
- 161 CHO, S.H.; PARK, H.J.; et al. Determination of anabolic-androgenic steroid adulterants in counterfeit drugs by UHPLC-MS/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 111, p. 138–146, 2015.
- 162 OSTA, R. E.; ALMONT, T.; et al. Anabolic steroids abuse and male infertility. **Basic and Clinical Andrology**, v. 26, n. 1, p. 2, 2016.
- 163 LINDON, J.C.; TRANTER, G.E.; et al. **Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry**. Academic Press, 2016.
- 164 ELDER, D.P.; HOLM, R. Analytical advances in pharmaceutical impurity profiling.

European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 87, p. 118–135, 2016.

165 LUO, G.; LI, Y.; et al. Development and application of a high-throughput sample cleanup process based on 96-well plate for simultaneous determination of 16 steroids in biological matrices using liquid chromatography–triple quadrupole mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 4, p. 1137–1149, 2016.

166 CUSTERS, D.; CANFYN, M.; et al. Headspace–gas chromatographic fingerprints to discriminate and classify counterfeit medicines. **Talanta**, v. 123, p. 78–88, 2014.

167 COCK, K.J.S.; DELBEKE, F.T.; et al. Detection and determination of anabolic steroids in nutritional supplements. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 25, n. 5–6, p. 843–852, 2001.

168 MARQUES, M.A.S.; PEREIRA, H.M.G.; et al. Improvements in steroid screening in doping control with special emphasis to GC-MS analytical conditions and method validation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 2, p. 382–392, 2006.

169 KOESDJOJO, M.T.; WU, Y.; et al. Low-cost, high-speed identification of counterfeit antimalarial drugs on paper. **Talanta**, v. 130, p. 122–127, 2014.

170 GREEN, M.D.; NETTEY, H.; et al. Use of refractometry and colorimetry as field methods to rapidly assess antimalarial drug quality. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, n. 1, p. 105–110, 2007.

171 MADRAKIAN, T.; AFKHAMI, A.; et al. Preconcentration and spectrophotometric determination of oxymetholone in the presence of its main metabolite (mestanolone) using modified maghemite nanoparticles in urine sample. **Talanta**, v. 115, p. 468–473, 2013.

172 NEUBERGER, S.; NEUSÜß, C. Determination of counterfeit medicines by Raman spectroscopy: Systematic study based on a large set of model tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 112, p. 70–78, 2015.

173 LU, F.; WENG, X.; ET AL. A novel identification system for counterfeit drugs based on portable Raman spectroscopy. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 127, p. 63–69, 2013.

174 MONAKHOVA, Y.B.; LACHENMEIER, D.W.; et al. Standardless multicomponent qNMR analysis of compounds with overlapped resonances based on the combination of ICA and PULCON. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 821–828, 2015.

175 THEVIS, M.; SCHRADER, Y.; et al. Analysis of Confiscated Black Market Drugs Using Chromatographic and Mass Spectrometric Approaches. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 32, n. 3, p. 232–240, 2008.

176 PELLEGRINI, M.; ROTOLO, M.C.; et al. A simple toxicological analysis of anabolic steroid preparations from the black market. **Annales de Toxicologie Analytique**, v. 24, n. 2, p. 67–72, 2012.

177 PELLEGRINIA, M.; ROTOLO, M.C.; et al. Non-allowed Pharmacologically Active Substances in Physical and Sexual Performance Enhancing Products. **Current neuropharmacology**, v. 15, n. 5, p. 724–730, 2017.

178 KOZLIK, P.; TIRCOVA, B. Development of the fast, simple and fully validated high performance liquid chromatographic method with diode array detector for quantification of

- testosterone esters in an oil-based injectable dosage form. **Steroids**, v. 115, p. 34–39, 2016.
- 179 POZO, O.; EENOO, P.; et al. Detection and characterization of anabolic steroids in doping analysis by LC-MS. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 8, p. 657–671, 2008.
- 180 USP - United States Pharmacopeia. Disponível em: <<http://www.usp.org/>>. Acesso em: 27/12/2017
181 **The British Pharmacopeia**. London, UK: British Pharmacopeia Commission, 2013.
- 182 EVERETT, J.R.; HARRIS, R.K.; et al. **NMR in pharmaceutical sciences**. 2015.
- 183 LIU, J.; LIU, Y.; et al. Structural and Quantitative Analysis of Three C-Glycosylflavones by Variable Temperature Proton Quantitative Nuclear Magnetic Resonance. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2017, p. 1–5, 2017.
- 184 MESMER, M.Z.; SATZGER, R.D. Determination of Anabolic Steroids by HPLC with UV-Vis-Particle Beam Mass Spectrometry. **Journal of Chromatographic Science**, v. 35, n. 1, p. 38–42, 1997.
- 185 BASAVESWARA RAO, M. V; NAGENDRAKUMAR, A.V.D. RP-HPLC method development and validation of stanzolol for analysis of tablets dosage form. **International Journal of Research and Reviews in Pharmacy and Applied Sciences**, v. 1, n. 3, p. 153–165, 2011.
- 186 HOFFMAN, J.R.; KRAEMER, W.J.; et al. Position Stand on Androgen and Human Growth Hormone Use. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 23, n. 5 Suppl, p. S1–S59, 2009.
- 185 **Oxandrolone**. Disponível em: <<https://www.steroidal.com/steroid-profiles/oxandrolone/>>. Acesso em: 26/2/2018.
- 188 OLIVEIRA, T.S.; AGUIAR, É. de F.; et al. Anabolizantes em bovinos: Impactos sobre o crescimento, características de carcaça e segurança alimentar. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 3, n. 26, p. 1–15, 2009.
- 189 LLEWELLYN, W. **Dianabol (metandrostenolona)**. Disponível em: <<https://anabolic.org/dianabol-methandrostenolone/>>. Acesso em: 27/2/2018.
- 190 FELDKOREN, B.I.; ANDERSSON, S. Anabolic-androgenic steroid interaction with rat androgen receptor in vivo and in vitro: A comparative study. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 94, n. 5, p. 481–487, 2005.
- 191 MARKEN LICHTENBELT, W.D.V.; HARTGENS, F.; et al. Bodybuilders' body composition: effect of nandrolone decanoate. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 36, n. 3, p. 484–9, 2004.
- 192 **Testosterone Cypionate**. Disponível em: <<https://www.drugs.com/pro/testosterone-cypionate.html>>. Acesso em: 28/2/2018.
- 193 TRAMS, G. Effect of drostanolone propionate on the binding of oestradiol and dihydrotestosterone by normal and malignant target tissues. **European Journal of Cancer** (1965), v. 13, n. 2, p. 149–153, 1977.
- 194 PAVLATOS, A.M.; FULTZ, O.; et al. Review of oxymetholone: a 17 α -alkylated anabolic-androgenic steroid. **Clinical Therapeutics**, v. 23, n. 6, p. 789–801, 2001.

- 195 TEUBNER, A.; MÜLLER, K.; et al. Effects of an anabolic steroid (Durateston) on testicular angiogenesis in peripubertal stallions. **Theriogenology**, v. 84, n. 3, p. 323–332, 2015.
- 196 SANTO, F.Z.D.E. **Estanozolol : Uma Revisão De Literatura**. 2006. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Educação Física), Universidade do Estado de Santa Catarina, Florianópolis.
- 197 OLIVEIRA, E.C.S. **Estudo de Agregação em Asfaltenos por Ressonância Magnética Nuclear de Alto Campo**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
- 198 SOUZA, A.A.; LAVERDE Jr., A. Aplicação da espectroscopia de ressonância magnética nuclear para estudos de difusão molecular em líquidos: a técnica DOSY. **Química Nova**, v. 25, n. 6a, p. 1022–1026, 2002.
- 199 HOLZGRABE, U.; MALET-MARTINO, M. Analytical challenges in drug counterfeiting and falsification—The NMR approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 4, p. 679–687, 2011.
- 200 BEKIROGLU, S.; MYRBERG, O.; et al. Validation of a quantitative NMR method for suspected counterfeit products exemplified on determination of benzethonium chloride in grapefruit seed extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, n. 4–5, p. 958–961, 2008.
- 201 DE CARVALHO, J. M.; MAIA, G. A.; et al. Perfil dos principais componentes em bebidas energéticas: cafeína, taurina, guaraná e glucoronolactona Major compounds profiles in energetic drinks: caffeine, taurine, guarana, and glucoronolactone. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 65, n. 2, p. 78–85, 2006.
- 202 ANVISA. **Portaria nº 868, de 3 de Novembro de 1998**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/PORTARIA_868_1998.pdf/a85e6878-9df9-4118-82c0-7bfa586f71e9>. Acesso em: 6/3/2018
- 203 OSCAR, N. **Consumo de bebidas energéticas cresce 325%**. Disponível em: <<http://economia.estadao.com.br/noticias/geral,consumo-de-bebidas-energeticas-cresce-325-imp-,681566>>. Acesso em: 6/3/2018.
- 204 CANGANI, A.P. **Desenvolvimento, otimização e validação de método para determinação simultânea de cafeína e taurina em bebidas energéticas por eletroforese capilar**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade de Campinas, Campinas.
- 205 GOMES, M.F.M. **Bebidas energéticas: o seu uso em crianças e adolescentes**. Dissertação (Mestrado em Medicina), Universidade do Porto, Porto.
- 206 **Dossiê bebidas energéticas**. Disponível em: <www.revista-fi.com>. Acesso em: 6/3/2018
- 207 PULCHERIO, G. Bebidas energéticas – uso indiscriminado? **Revista da AMRIGS**, v. 54, n. 3, 2010.
- 208 CARMEN BALLISTRERI, M.; MENDONÇA CORRADI-WEBSTER, C. O uso de bebidas energéticas entre estudantes de educação física. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 16, 2008.

- 209 SANTOS, I.; SOUZA, A.; et al. Análise de composição química de bebidas energéticas em comparação com a rotulagem nutricional e legislações vigentes. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 11, n. 63, p. 312–320, 2017.
- 210 FRANCO, R.; OÑATIBIA-ASTIBIA, A.; et al. Health benefits of methylxanthines in cacao and chocolate. **Nutrients**, v. 5, n. 10, p. 4159–73, 2013.
- 211 FOGAÇA, J.R.V. **Cafeína**. Disponível em: <<http://alunosonline.uol.com.br/quimica/cafeina.html>>. Acesso em: 7/3/2018.
- 212 ALTIMARI, L.R.; CYRINO, E.S.; et al. Efeitos ergogênicos da cafeína sobre o desempenho físico. **Revista Paulista de Educação Física**, v. 14, n. 2, p. 141–158, 2000.
- 213 MYERS, M.G. Cardiovascular Effects of Caffeine: Misconceptions about caffeine use and coronary heart disease. **Canadian family physician Medecin de famille canadien**, v. 38, p. 1459–62, 1992.
- 214 OLIVEIRA, C. DOS S.; ALVES, R.C.; et al. Efeitos da suplementação de cafeína no desempenho, percepção subjetiva do esforço e percepção de dor durante o treinamento de força: uma revisão. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v. 11, n. 71, p. 967–972, 2018.
- 215 PEREIRA, J.C.; SILVA, R.G.; et al. Effect of taurine intake on physical performance: a systematic review. **Rev Andal Med Deporte**, v. 5, n. 4, p. 156–162, 2012.
- 216 LEITE, P. **Taurina: O Que é, Para Que Serve e Efeitos Colaterais**. Disponível em: <<http://www.mundoboforma.com.br/taurina-o-que-e-para-que-serve-e-efeitos-colaterais/>>. Acesso em: 7/3/2018
- 217 RIPPS, H.; SHEN, W. Review: Taurine: A “very essential” amino acid. **Molecular vision**, v. 18, p. 2673–86, 2012.
- 218 BERGER, A.J.; ALFORD, K. Cardiac arrest in a young man following excess consumption of caffeinated “energy drinks”; **The Medical journal of Australia**, v. 190, n. 1, p. 41–3, 2009.
- 219 SHIMAMOTO, G.G.; BIANCHETTI, L.F.; et al. Alternative method to quantify biodiesel and vegetable oil in diesel-biodiesel blends through ¹H NMR spectroscopy. **Talanta**, v. 168, p. 121–125, 2017.
- 220 DRAGANOV, G.B.; PENCHEVA, I.P.; et al. UV-spectrophotometry determination of taurine in energy drink mixtures. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**, v. 3, n. 2, p. 123–126, 2014.
- 221 LEACOCK, R.E.; STANKUS, J.J.; et al. Simultaneous Determination of Caffeine and Vitamin B6 in Energy Drinks by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). **Journal of Chemical Education**, v. 88, n. 2, p. 232–234, 2011.
- 222 ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; et al. Solid-phase FT-Raman determination of caffeine in energy drinks. **Analytica Chimica Acta**, v. 547, n. 2, p. 197–203, 2005.
- 223 MCCONN, B. Determination of taurine in energy drinks by high-performance liquid chromatography. **Concordia College Journal of Analytical Chemistry**, v. 3, p. 47–52, 2012.
- 224 ARANDA, M.; MORLOCK, G. Simultaneous determination of riboflavin, pyridoxine, nicotinamide, caffeine and taurine in energy drinks by planar chromatography-multiple

detection with confirmation by electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1131, n. 1–2, p. 253–260, 2006.

225 RAI, K.P.; RAI, H.B.; et al. Determination of Caffeine and Taurine Contents in Energy Drinks by HPLC-UV. **Journal of Food Science and Technology Nepal**, v. 9, n. 0, p. 66, 2016.

226 HOHMANN, M.; FELBINGER, C.; et al. Quantification of taurine in energy drinks using ^1H NMR. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 93, p. 156–160, 2014.

227 VOCHYÁNOVÁ, B.; OPEKAR, F.; et al. Simultaneous and rapid determination of caffeine and taurine in energy drinks by MEKC in a short capillary with dual contactless conductivity/photometry detection. **Electrophoresis**, v. 35, n. 11, p. 1660–1665, 2014.

228 GÖTZ, S.; REVERMANN, T.; et al. Quantitative on-chip determination of taurine in energy and sports drinks. **Lab Chip**, v. 7, n. 1, p. 93–97, 2007.

229 ZHAO, F.; WANG, F.; et al. Voltammetric sensor for caffeine based on a glassy carbon electrode modified with Nafion and graphene oxide. **Microchim Acta**, v. 174, p. 383–390, 2011.

230 SAAD, R.; BUSTAN, H. Validation and Determination of Caffeine Contents in Energy Drinks Available on the Iraqi Market by Using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). **International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 61, p. 181–194, 2016.

231 BUCKINGHAM, D.; CLARK, C.; et al. The Acidity of Norfloxacin. **Australian Journal of Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 301, 1990.

232 LI, X.; HU, K. Quantitative NMR Studies of Multiple Compound Mixtures. **Annual Reports on NMR Spectroscopy**, v. 90, p. 85–143, 2017.