



Extraction, quantification and detection of caffeine in foods as teaching strategies

Extração, quantificação e detecção da cafeína em alimentos como estratégias de ensino

MATOS, Danielle Durães Ferreira⁽¹⁾; VELOSO, Pedro Henrique Fonseca⁽²⁾; ROYO, Vanessa de Andrade⁽³⁾

⁽¹⁾ 0009-0004-7724-7586; Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES). Montes Claros, Minas Gerais (MG), Brasil. dani.contato@outlook.com.br

⁽²⁾ 0000-0003-2802-1244; Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES). Montes Claros, Minas Gerais (MG), Brasil. pedrofonsecambc@gmail.com.

⁽³⁾ 0000-0002-4842-3569; Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES). Montes Claros, Minas Gerais (MG), Brasil. Vanroyo31@gmail.com.

O conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos/as seus/as autores/as.

ABSTRACT

This study aims to determine the caffeine content in different food samples through liquid-liquid extraction, which can be carried out in laboratory practices in Science, Biology, Chemistry, Pharmacy classes and related areas. Caffeine, an alkaloid present in coffee beans, was chosen due to its relevance in global consumer culture. The methodology involves extracting caffeine from green coffee, roasted coffee, cocoa powder and energy drinks. The results indicate that the extraction was effective, with varying concentrations of caffeine in the samples analyzed. Roasted coffee had the highest concentration (101mg), followed by green coffee (56mg), cocoa (15mg) and energy drink (64mg). Thin layer chromatography qualitatively confirmed the presence of caffeine in the samples. The methodology used in this research provides an interdisciplinary approach, integrating concepts from biology and chemistry. Furthermore, it highlights the importance of experimentation in science teaching, encouraging practical investigation. The experiment is simple to execute, allowing students to take an active role in the steps necessary to carry it out. The work also points to possible expansions, such as investigating the influence of the coffee roasting process on caffeine concentration and exploring regional variations in caffeine concentrations in green coffee beans. It is concluded that this practical approach contributes significantly to students' scientific knowledge, promoting understanding of the separation of substances and the presence of caffeine in foods and drinks.

RESUMO

Este estudo tem como objetivo a determinação do teor de cafeína em diferentes amostras alimentícias por meio da extração líquido-líquido, que possa ser realizado em práticas laboratoriais em aulas de Ciências, Biologia, Química, Farmácia e áreas afins. A cafeína, um alcaloide presente em grãos de café, foi escolhida devido à sua relevância na cultura global de consumo. A metodologia envolve a extração de cafeína de café verde, café torrado, cacau em pó e bebida energética. Os resultados indicam que a extração foi eficaz, com concentrações variadas de cafeína nas amostras analisadas. O café torrado apresentou a maior concentração (101mg), seguido pelo café verde (56mg), cacau (15mg) e bebida energética (64mg). A cromatografia em camada delgada confirmou qualitativamente a presença de cafeína nas amostras. A metodologia utilizada nesta pesquisa proporciona uma abordagem interdisciplinar, integrando conceitos de biologia e química. Além disso, destaca a importância da experimentação no ensino de ciências, promovendo o estímulo à investigação prática. O experimento é de execução simples, permitindo que os alunos assumam um papel ativo nas etapas necessárias para sua realização. O trabalho também aponta para possíveis ampliações, como investigar a influência do processo de torrefação do café na concentração de cafeína e explorar variações regionais nas concentrações de cafeína em grãos de café verde. Conclui-se que esta abordagem prática contribui significativamente para o conhecimento científico dos alunos, promovendo a compreensão da separação de substâncias e a presença de cafeína em alimentos e bebidas.

INFORMAÇÕES DO ARTIGO

Histórico do Artigo:

Submetido: 10/11/2023

Aprovado: 22/06/2024

Publicação: 27/06/2024



Keywords:

Liquid-liquid extraction, Thin layer chromatography, Science teaching, Caffeine.

Palavras-Chave:

Extração líquido-líquido, Cromatografia em camada delgada, Ensino de ciências, Cafeína.

Introdução

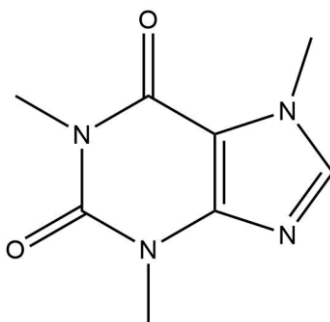
A educação científica é um dos pilares fundamentais no desenvolvimento de habilidades críticas e analíticas dos estudantes. O ensino das Ciências desempenha um papel crucial na formação dos cidadãos do futuro, capacitando-os a compreender e contribuir para os avanços científicos em uma sociedade cada vez mais orientada para a ciência e a tecnologia (Interaminense, 2019). A pesquisa educacional tem demonstrado que a aprendizagem prática, envolvendo os alunos em experimentação, observação e análise ativa, é fundamental para a retenção de conhecimento e o desenvolvimento de habilidades críticas (Braga et al., 2021; Albuquerque, 2008). As aulas práticas experimentais permitem que os discentes apliquem conceitos teóricos em situações do mundo real, estimulando o pensamento crítico e a resolução de problemas. Além disso, a interação teoria e prática ajuda a despertar o interesse dos alunos, tornando o aprendizado mais atraente e memorável (Miranda, Leda & Peixoto, 2013).

Neste contexto, a extração líquido-líquido (ELL) emerge como uma técnica-chave, incorporando tanto a teoria biológica e química quanto as aplicações práticas em análise de biomoléculas. Trata-se de uma técnica analítica capaz de transferir seletivamente um soluto de uma fase líquida para outra baseada na diferença de afinidade do soluto entre as duas fases. Geralmente, uma fase é aquosa e a outra é orgânica, fazendo necessário a adição de um solvente orgânico no preparo da solução (Facchin & Pasquini, 1997). Na metodologia clássica da técnica utiliza-se o funil de separação contendo a mistura que irá ser separada com a adição de um solvente que irá dissolver o soluto. Essa técnica é comumente utilizada na separação e purificação de compostos em alimentos, como na remoção de sabores e substâncias indesejadas, ou na extração de compostos aromáticos, corantes e antioxidantes (Zuñiga, 2003).

Com o intuito de aplicar a técnica de extração líquido-líquido em aula prática no ensino de ciências, a abordagem escolhida visa a exploração de composto presente no cotidiano de grande parte da população: a cafeína (Figura 1). A cafeína é um produto natural, classificado como alcaloide da família das metilxantinas que é, em na maior parte, metabolizada no fígado para a produção de 3,7-dimetilxantina, 1,7-dimetilxantina e 1,3-dimetilxantina que vão atuar como estimulantes no organismo (Weng, 2021; Al-Mssallem, 2022; Fan, 2023). Ocorre naturalmente em várias plantas, mas se tornou mais notória devido à presença proeminente nos grãos de café, o que resultou na origem do termo “cafeína”, devido a associação do composto nesses frutos onde foi descoberta pela primeira vez e se tornou parte integral da cultura global de consumo de cafeína, mais frequentemente em bebidas como energéticos, café e chá (Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde [ABIFISA], 2022). Estima-se que, no Brasil, os adultos consumam 300mg de cafeína por dia, um número alto devido às tradições alimentícias do país (Heckman, Weil & Mejia, 2010).

Figura 1.

Fórmula estrutural da cafeína



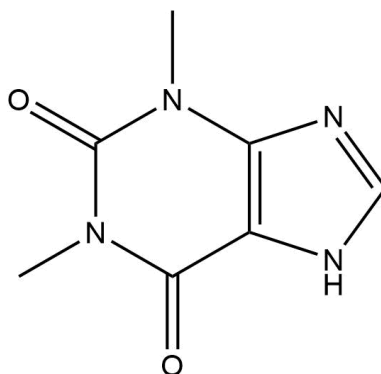
Cafeína

Nota: Autores (ChemDraw, 2023)

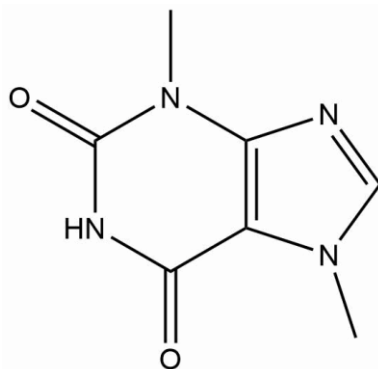
O efeito da cafeína no organismo é bastante estudado, uma vez que as ações são diversas. Atua no corpo humano de forma positiva como na melhora do humor, desempenho físico nos exercícios, previne alguns tipos de câncer (Abel et al., 2007), tem ação anti-inflamatória (Andersen, Jacobs, Carlsen, & Blomhoff, 2006) e aciona o estado de alerta, mas também pode trazer aspectos negativos como desregulação do sono, influência na obesidade e cáries dentárias por estar presente em bebidas açucaradas, além de poder afetar o desenvolvimento do feto na gestação (Heckman et al., 2010).

Outros compostos estimulantes que são pertencentes ao mesmo grupo da cafeína são a teofilina e a teobromina. As semelhanças também estão na fórmula química estrutural (Figuras 2 e 3), nos alimentos em que são encontrados e em boa parte das ações no organismo (Alves & Bragagnolo, 2002). No que tange à teofilina, são observados estudos no tratamento de diversas doenças das vias aéreas, como por exemplo asma e a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), uma vez que ela promove a broncodilatação e melhora a performance dos músculos respiratórios e cardíacos diminuindo a dispneia (Bueno, 2003; Barnes, 2010). Consoante a isso, a teobromina age como vasodilatador auxiliando no fluxo sanguíneo e na pressão arterial, além de proporcionar sensação de relaxamento e calma ao aprimorar a circulação no cérebro e aumentar o suprimento de oxigênio (Peres, Brandão & Rezende, 2018).

No cacau são encontrados ambos os alcaloides na composição, o que justifica o aumento do desejo de consumo e, nos alimentos em geral, a teobromina, associada à cafeína e à teofilina, constituem as metilxantinas mais prevalentes na natureza, são amplamente consumidas e exibem variedade de efeitos farmacológicos em seres humanos (Zoumas, Kreiser & Martin, 1980).

Figura 2.*Fórmula estrutural da teofilina*

Teofilina

*Nota: Autores (ChemDraw, 2023)***Figura 3.***Fórmula estrutural da teobromina*

Teobromina

Nota: Autores (ChemDraw, 2023)

Uma vez que é amplamente consumida no mundo, a cafeína está sujeita a regulamentações quanto aos limites permitidos em certos alimentos, o que torna relevante a determinação da concentração nos produtos. Com isso, faz-se justificado o trabalho de separação e quantificação desse composto em uma variedade de alimentos comuns, contribuindo assim para o melhor entendimento da composição dos alimentos e dos hábitos alimentares populacionais.

O objetivo deste trabalho é determinação do teor de cafeína em diferentes amostras alimentícias por meio da extração líquido-líquido, que possa ser realizado em práticas laboratoriais em aulas de Ciências, Biologia, Química, Farmácia e áreas afins.

Materiais e Métodos

Obtenção das amostras

Foram adquiridas amostras de café verde, café torrado, cacau em pó e energético no comércio local da cidade de Montes Claros, norte de Minas Gerais, Brasil.

Preparo do padrão e extrato

Os padrões cafeína e teofilina foram preparados com 1mg da substância em 1mL de etanol 95%

Amostras sólidas

Foram triturados 10g de grãos de café verde e torrado, em moinho de facas até a obtenção de um pó fino e homogêneo, próximo a gramatura do cacau em pó. Foi preparada solução de ácido clorídrico a 1,5%, adicionadas 125mL em cada erlenmeyer contendo cada uma das amostras. Posteriormente o material foi levado à fervura por 5-10 minutos. Após a fervura, as soluções foram resfriadas até a temperatura ambiente.

O fervido foi coado em papel filtro, completado até o volume de 250mL com água destilada e o pH foi ajustado com solução de hidróxido de sódio a 10% até pH 10. Reservou-se o filtrado.

Amostra líquida

Devido ao estado líquido do energético, não foi necessário fazer o processo de extração. Verteu-se o líquido em erlenmeyer, foi retirado o gás e estabilizado até pH 10 com hidróxido de sódio a 10%.

Extração líquido-líquido

Em funil de separação foram adicionados o extrato e 20mL de diclorometano, o balão foi agitado, retirado o gás durante a agitação, e após decantação a fase orgânica foi coletada, realizou-se a extração por 3x consecutivas. Repetiu-se o processo para as demais amostras

Secagem e rendimento do extrato

A fase orgânica foi seca com auxílio de chapa aquecedora em capela de exaustão, e posteriormente foi calculado o rendimento em mg de cafeína para cada uma das amostras.

Cromatografia em camada delgada

Em placa cromatográfica de sílica com detecção UV 254nm foram depositados com auxílio de capilar os padrões e 1mg de cada extrato ressuspenso em etanol 95%, 1cm acima da borda inferior da placa.

Eluição

A placa foi eluída em cuba para cromatografia planar, com fase móvel composta por acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10), até 0,5cm da borda superior da placa.

Revelação

Após a eluição a placa foi visualizada em luz UV-254 nm e revelada com o reagente iodo-ácido clorídrico (Wagner; Bladt, 1996), direcionado para detecção de purinas. O revelador é composto por 2 soluções: a) 1g de iodeto de potássio e 1g de iodo dissolvidos em 100mL de etanol 96% e b) 25mL de ácido clorídrico a 25% e 25mL de etanol 96%. Pulveriza-se a placa com aproximadamente 5mL da solução “a” e, após seca, pulveriza-se cerca de 5mL da solução “b”, e observa-se a formação de manchas na placa.

Resultados e Discussão

No estudo, foi proposta a metodologia de extração de cafeína de várias fontes, incluindo café verde, café torrado, bebida energética e cacau em pó. Além disso, foi aplicada a técnica de cromatografia em camada delgada para a visualização qualitativa da extração.

Os resultados obtidos fornecem dados sobre a concentração e a presença da cafeína e outros compostos nas amostras analisadas (Tabela 1), o que corrobora de forma positiva com a técnica de extração utilizada. O processo de extração foi eficaz na obtenção de cafeína a partir das diferentes fontes. Na amostra de café torrado a concentração foi a mais elevada de cafeína (101mg) quando em comparação com o café verde (56mg), diferença que pode estar relacionada ao tipo de grão e variedade do cultivar, uma vez que o café da espécie arábica costuma apresentar cerca de metade da quantidade de cafeína encontrada na espécie robusta (ABIFISA, 2022).

Tabela 1.

Massa de cafeína extraída das amostras

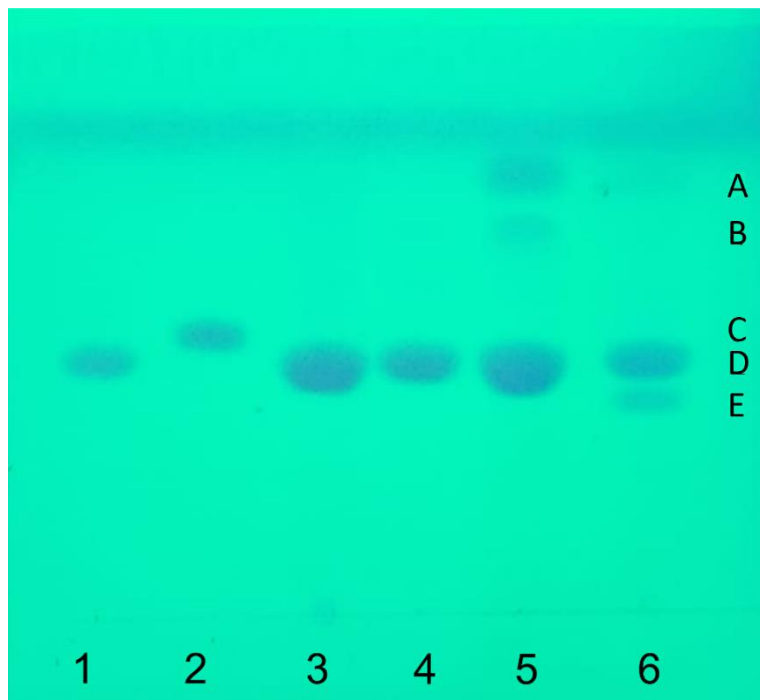
Amostra	Massa ou volume inicial	Massa cafeína extraída (mg)
Café torrado	10g	101
Café Verde	10g	56
Cacau	10g	15
Energético	269 mL	64

A bebida energética demonstrou concentração de alcaloides extraídos próxima à do café verde, 64 mg. Considerando maior predominância de cafeína, o valor encontrado foi próximo do informado pelo fabricante (80mg). A presença de cafeína no cacau em pó foi confirmada, embora em menor quantidade do que nas fontes de café, compreendendo 15mg juntamente com resquícios de outra substância.

A cromatografia em camada delgada é uma ferramenta útil para a separação e detecção qualitativa dos compostos nas amostras, pois ela é capaz de comparar uma substância com um padrão de acordo com o curso da reação química, além de separar ou definir a pureza de uma amostra por afinidade com a fase móvel (Zuben & Souza, 2022) e provou sua eficiência neste experimento, permitindo a identificação da cafeína com base na mobilidade relativa. Na figura abaixo, a placa cromatográfica revelada sob luz UV a 254nm.

Figura 4.

Placa de cromatografia com revelação das amostras sob luz UV



(1) Amostra de cafeína. (2) Amostra de teofilina. (3) Café torrado. (4) Café verde. (5) Energético. (6) Cacau.
(A, B) Substâncias desconhecidas. (C) Teofilina. (D) Cafeína. (E) Teobromina.

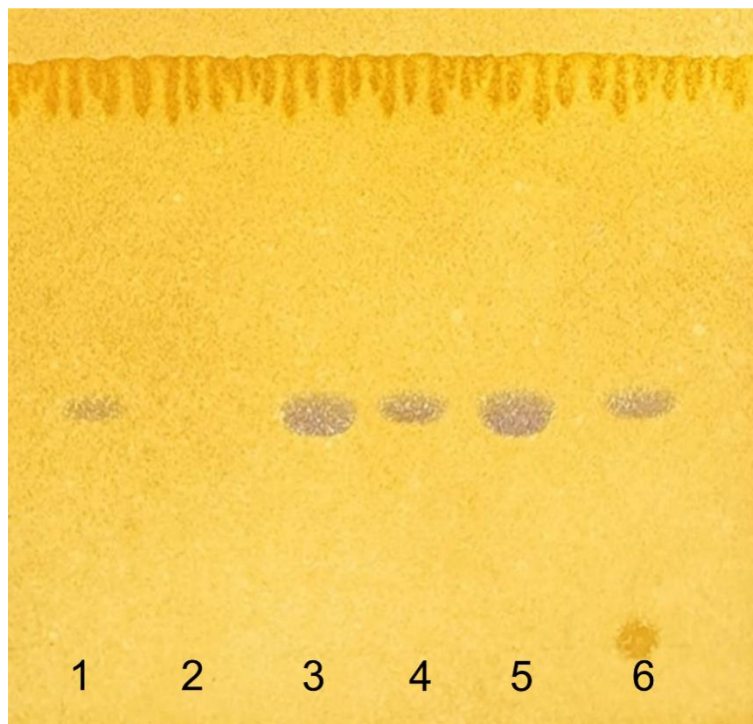
Nota: Autores

No lado direito da imagem, estão identificados verticalmente a distância percorrida pelas substâncias eluídas. Pode-se notar o alinhamento das amostras com a substância padrão de cafeína identificado como D, validando a presença da substância. Mesmo o método de extração direcionado à cafeína, a teobromina, alcaloide de maior abundância no cacau (Bartella et al., 2019), foi detectado em forma de resíduo na cromatografia de camada delgada (E). Ademais, na visualização aparecem outros dois compostos na amostra do energético, identificados como A e B, que acreditamos ser taurina, aminoácido sintético presente na composição da bebida (Souza et al., 2023) que também foi extraído em quantidades residuais, e outra substância não identificada.

A revelação química com iodo-ácido clorídrico detectou a cafeína na placa de forma alinhada à amostra padrão da substância (1), como pode ser observado na imagem abaixo:

Figura 5.

Placa de cromatografia com revelação por iodo-ácido clorídrico



Nota: Autores

É importante destacar que este estudo utilizou uma metodologia simplificada. A extração e a visualização qualitativa da cafeína são apenas o primeiro passo na caracterização detalhada dos compostos presentes nas amostras. A acidificação das soluções contendo a cafeína é necessária para aumentar a solubilidade do alcaloide em água.

Os alcaloides possuem pH alto, sendo assim, a adição de um ácido fará com que o composto fique na forma de sal, tornando mais solúveis em água e livre dos interpostos gordurosos. A alcalinização consecutiva se dá pela necessidade de transformar o alcaloide da forma de sal para forma de base livre, solúvel em solventes orgânicos (Brenelli, 2003). O processo faz com que a extração final tenha maior eficiência.

Além disso, este estudo abre espaço para investigar a influência do processo de torrefação do café na concentração de cafeína (ABIFISA, 2022), bem como explorar as variações regionais nas concentrações de cafeína em grãos de café verde. As investigações podem fornecer informações que esclareçam a relação de compostos lipofílicos e a presença de cafeína de forma inversamente proporcional.

Considerações finais

Verificou-se que o experimento proposto facilita a abordagem de questões que abrangem tanto a biologia quanto a química de maneira interdisciplinar, introduz conceitos e métodos, promovendo o estímulo à investigação prática. É importante ressaltar que o a atividade em questão é de execução descomplicada, permitindo que os alunos assumam o papel central nas etapas necessárias para a realização. Inúmeras temáticas podem e devem ser exploradas, como interações entre moléculas, polaridade, a influência da gravidade, química de substâncias naturais, moléculas com atividade biológica, concentração diferentes de um mesmo composto e diversos alimentos e outras questões que se entrelaçam com as áreas da física, química e biologia.

A principal estratégia para promover a experimentação no ensino de ciências é por meio das práticas didáticas, as quais podem ser realizadas tanto dentro como fora do ambiente escolar, adaptando-se às necessidades específicas de cada conteúdo. No entanto, é importante destacar que as aulas ministradas em laboratórios desempenham papel insubstituível nos cursos de biologia. Isso ocorre porque tais aulas proporcionam o contato direto e a observação de fenômenos, ao mesmo tempo em que possibilitam a análise dos processos biológicos e a confrontação de resultados inesperados, desafiando a capacidade de imaginação e raciocínio dos estudantes. Uma vez que o desenvolvimento desses processos, com materiais presentes no cotidiano dos discentes é uma ferramenta capaz de aproximá-los da ciência, de forma eficiente e contextualizada.

O estudo é um exemplo de aula prática para demonstrar de forma eficiente a separação de substâncias e a compreensão da cafeína em alimentos e bebidas, contribuindo para o conhecimento científico de discentes que possuem técnicas de separação e purificação de amostras no currículo ou plano de curso.

REFERÊNCIAS

- Abel, E. L., Hendrix, S. O., McNeeley, S. G., Johnson, K. C., Rosenberg, C. A., Mossavar-Rahmani, Y., Vitolins, M., & Kruger, M. (2007). Daily coffee consumption and prevalence of nonmelanoma skin câncer in Caucasian women. *European Journal of Cancer Prevention*, 16 (5), 446-452. DOI: 10.1097/01.cej.0000243850.59362.73
- Al-Mssallem, M. Q., & Aleid, S. M. (2022). Caffeinated Beverages and Diabetes. *Springer International Publishing*, 1-14. https://doi.org/10.1007/978-3-030-67928-6_81-1
- Albuquerque, T. (2008). Do abandono à permanência num curso de ensino superior. *Revista de ciências da educação*, (7), 19-28.
<http://sisifo.ie.ulisboa.pt/index.php/sisifo/article/view/115/189#>

- Alves, A. B., & Bragagnolo, N. (2002). Determinação simultânea de teobromina, teofilina e cafeína em chás por cromatografia líquida de alta eficiência. *Revista Brasileira De Ciências Farmacêuticas*, 38 (2), 237-243. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322002000200013>
- Andersen, L. F., Jacobs, D. R., Carlsen, M. H., & Blomhoff, R. (2006). Consumption of coffee is associated with reduced risk of death attributed to inflammatory and cardiovascular diseases in the Iowa Womens's Health Study²³. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83 (5), 1039-1046. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.5.1039>
- Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde. (2022). *Descoberta e disseminação da cafeína*. Curitiba: Food Ingredients Brasil. Recuperado de <https://abifisa.org.br/descoberta-e-disseminacao-da-cafeina/>
- Barnes, P. J. (2010). Theophylline. *Pharmaceuticals*, 3 (3), 725-747. <https://doi.org/10.3390/ph3030725>
- Bartella, L., Leonardo Di Donna, Napoli, A., Siciliano, C., Sindona, G., & Mazzotti, F. (2019). A rapid method for the assay of methylxanthines alkaloids: Theobromine, theophylline and caffeine, in cocoa products and drugs by paper spray tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 278, 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.072>
- Braga, M. N. S., Prestes, C. F., Oliveira, V. G., Menezes, J. A., Cavalcante, F. S. A., & Lima, R. A. (2021). A importância das aulas práticas de química no processo de ensino-aprendizagem no PIBID. *Diversitas Journal*, 6 (2), 2530-2542. <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v6i2-1267>
- Brenelli, E. C. S. (2003). A extração de cafeína em bebidas estimulantes – uma nova abordagem para um experimento clássico em química orgânica. *Quim. Nova*, 26 (1), 136-138. <https://www.scielo.br/j/qn/a/p4nZRkNdzcqCpcJmJJwt6wR/?format=pdf&lang=pt>
- Bueno, M. A. S. (2003). Papel atual das metilxantinas (aminofilina e teofilina) nas doenças respiratórias. *Einstein*, 1, 141-142. https://www.researchgate.net/publication/238789124_Papel_atual_das_metilxantinas_aminofilina_e_teofilina_nas_doencas_respiratorias
- Facchin, I., & Pasquini, C.. (1998). Extração líquido-líquido em sistemas de fluxo. *Química Nova*, 21(1), 60–68. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421998000100010>
- Fan, J., Yuan, Y., Zhang, X., Li, W., Ma, W., Wang, W., Gu, J., & Zhou, B. (2023). Association between urinary caffeine and caffeine metabolites and stroke in American adults: a cross-sectional study from the NHANES. *In Scientific Reports*, 13 (1), 2009–2014. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39126-1>

- Heckman, M. A., Weil, J., & Mejia, E. G. (2010). Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in Foods: A Comprehensive Review on Consumption, Functionality, Safety, and Regulatory Matters. *Food Science*, 75 (3), 77-87. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01561.x>.
- Interaminense, B. K. S. (2019). A importância das aulas práticas no ensino da Biologia: Uma Metodologia Interativa. *Id on Line Rev. Mult.Psic.*, 13 (45), 342-354. <https://idonline.emnuvens.com.br/id/article/view/1842/2675>.
- Miranda, V. B. S., Leda, L. R., & Peixoto, G. F. (2013). A importância da atividade prática no ensino de biologia. *Revista de educação, Ciências e Matemática*, 3 (2), 1-17. <http://publicacoes.unigranrio.edu.br/index.php/recm/article/view/2010/1117>.
- Peres, L. G., Brandão, V. B., Rezende, A. J. (2018). Teobromina, substância encontrada no cacau. *Revista JRG de Estudos Acadêmicos*, 1 (3), 48-55. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4450841>
- Souza, S. S. A. de, Silva, H. S. da, Santana, D. L., & Neres, L. L. F. G. (2023). A influência do consumo de bebidas energéticas na saúde humana. *Facit Business and Technology Journal*, 2(45). <https://revistas.faculdefacit.edu.br/index.php/JNT/article/view/2442>
- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9>
- Weng, Z., Xu, C., Xu, J., Jiang, Z., Liu, Q., Liang, J., & Gu, A. (2021). Association of urinary caffeine and caffeine metabolites with cardiovascular disease risk in adults. *Nutrition*, 84, 111121. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.111121>
- Zoumas, B. L., Kreiser, W. R., Martin, R. (1980). Theobromine and caffeine content of chocolate products. *Food Science*, 45 (2), 314-316. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb02603.x>
- Zuben, G. V., & Souza, E. O. de. (2022). Identificação de flavonoides em extrato vegetal de passiflora incarnata linnaeus utilizando cromatografia em camada delgada (CDC). *Revista Eletrônica FACP*, 22. https://revistaunifacp.com.br/revista/index.php/reFACP/article/view/96/pdf_1
- Zuñiga, A. D. G., Coimbra, J. S. R., Minim, L. A., & Meirelles, A. J. A. (2003). *Estratégia de purificação das proteínas a-lactoalbumina e b-lactoglobulina do soro de queijo* (Tese de doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.