

Determinação de ácidos orgânicos em sucos de frutas tropicais por Eletroforese Capilar de Zona

M. S. Santos¹; J. S. Teles¹; R. M. Santos¹; A. P. G. Gervasio¹

¹Departamento de Química/LAPEC II, Universidade Federal de Sergipe, 49500-000, Itabaiana-Sergipe, Brasil

marisasstos@hotmail.com;

(Recebido em 10 de dezembro de 2012; aceito em 25 de março de 2013)

No presente trabalho um método analítico é proposto para quantificar ácidos orgânicos empregando Eletroforese Capilar de Zona em sucos de frutas tropicais (jambo, jabuticaba, seriguela e mangaba) adquiridas nos comércios de Itabaiana e Aracaju. Os ácidos orgânicos presentes nas frutas influenciam seu sabor, odor e estabilidade. Atualmente, o estudo dos ácidos orgânicos é imprescindível, uma vez que o Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo. O estado de Sergipe tem também destaque na exportação da laranja. Separação otimizada fora encontrada em 6min usando capilar de 75µm de d.i., voltagem de separação de 8kV (36µA), tampão contendo 100 mmolL⁻¹ de ácido bórico (pH 10,00) e 0,5 mmolL⁻¹ de CTAB.

Palavras-chave: Frutas tropicais, Ácidos Orgânicos, Eletroforese Capilar de Zona.

Determination of organic acids in tropical juice fruits by Capillary Zone Electrophoresis

In the present work an analytical method is proposed for quantify organic acids employing Capillary Electrophoresis Zone in tropical juice fruits (rose apple, jabuticaba, hog plum and mangaba) acquired in the places located in Itabaiana and Aracaju. Organic acids present in fruits influence their taste, odor and stability. Currently, the study of organic acids is essential, since Brazil is the third largest fruit producer in the world. The state of Sergipe has also featured in the exportation scene of orange. Optimized separation was achieved within 6min using silica capillary of 75µm d.i., separation voltage of 8kV (36µA), and a buffer consisting of 100mmol L⁻¹ boric acid (pH 10,00) and 0.5mmol L⁻¹ de CTAB.

Keywords: Tropical fruits, Organics Acids, Capillary Zone Electrophoresis.

1- INTRODUÇÃO

Ácidos orgânicos são substâncias que contêm uma ou mais carboxilas em sua molécula e estão presentes em vários alimentos, principalmente em frutas, influenciando o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade. Segundo a literatura, a acidez titulável também é bastante variável¹. Sua importância é tão grande que a acidez das frutas pode influenciar na sua aceitação comercial².

Devido ao seu poder nutricional, as frutas são também comercializadas considerando a concentração de alguns ácidos orgânicos em seu suco. Dentre os vários compostos importantes encontrados em frutas, o ácido cítrico e o ascórbico devem ser destacados, pois esse último faz parte de um grupo de substâncias químicas complexas necessárias para o funcionamento adequado do organismo humano. É considerada vitamina hidrossolúvel, também conhecida como vitamina C, o que significa que o organismo usa o que necessita e elimina o excesso. Quimicamente, o ácido ascórbico encontra-se em equilíbrio entre a forma reduzida (ácido L-ascórbico) e oxidada (ácido L-dehidroascórbico), respectivamente. Além de seu papel nutricional, é comumente utilizado como antioxidante para preservar o sabor e a cor natural de muitos alimentos, como frutas e legumes processados e laticínios. O ácido ascórbico ajuda a manter a cor vermelha da carne defumada devido à presença de oxigênio nos alimentos, como o toucinho, e previne a formação de nitrosaminas a partir do nitrito de sódio usado como inibidor do crescimento de microrganismos em carnes. A vitamina C também é usada como aditivo nutricional em bebidas, cereais matinais, conservas e refrigerantes enlatados e, por essa razão, o ácido ascórbico é manufaturado em larga escala³.

O ácido cítrico é o responsável pela acidez de frutas cítricas. Seu maior emprego é como acidulante em bebidas carbonatadas e alimentos. No campo médico, é empregado na fabricação de citratos e de sais efervescentes³.

Atualmente, o Brasil é um dos três maiores produtores de frutas do mundo. Sua produção superou 39 milhões de toneladas em 2010, o que representa aproximadamente 6,5% da produção mundial. Com esse saldo, o país fica atrás apenas da China e da Índia. Cerca de 53% da produção brasileira é destinada ao mercado de frutas processadas e 47% ao mercado de frutas frescas.⁴ Existe hoje um mercado externo potencial acessível à fruticultura brasileira de 28,3 milhões de toneladas, sendo que a produção brasileira está voltada para frutas tropicais, subtropicais e temperadas, graças a sua extensão territorial, posição geográfica, solo e condições climáticas⁵. Em nível estadual, destaca-se também Sergipe, sendo um dos maiores produtores de frutas no País e um dos grandes fornecedores de suco de laranja para o mercado internacional. Há condições favoráveis para produção de frutas cítricas em Sergipe, onde consta como primeiro produto na pauta das exportações agrícolas⁴.

É fundamental buscar técnicas analíticas que sejam eficazes para quantificar ácido orgânico devido tanto à sua importância em frutas quanto à saúde humana. Neste aspecto, pode-se destacar a Eletroforese Capilar de Zona (CZE). Na última década, a CZE tornou-se uma importante técnica analítica empregada para a determinação de diversos compostos em uma variedade de matrizes, incluindo os alimentos⁶⁻¹⁴.

A eletroforese capilar de zona (ECZ) é uma técnica de separação de solutos iônicos. As técnicas comumente empregadas para análise de separação são os métodos cromatográficos, que incluem a cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a cromatografia de íon (IC). Essas são excelentes técnicas de análise, contudo a derivatização exigida na cromatografia gasosa, ou o gasto excessivo de solventes e o tempo de análise encontrados em HPLC ou IC tornam as técnicas um pouco caras em relação ao uso da eletroforese. A este respeito, a CZE oferece características promissoras, incluindo análises rápidas, número elevado de pratos teóricos e seletividade de separação, sendo muitas vezes completamente diferente dos encontrados em métodos cromatográficos⁹. Existe na literatura excelente material didático sobre eletroforese capilar de zona que explica os fenômenos envolvidos e as aplicações da técnica.

Neste trabalho foi desenvolvido um método para a determinação de ácidos orgânicos em frutas comercializadas em Sergipe empregando a eletroforese capilar de zona.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Equipamentos e acessórios

Os seguintes equipamentos foram utilizados para a montagem do sistema eletroforético e desenvolvimento do trabalho: um detector UV da CE LabInstruments modelo 200, fonte de alta voltagem CZE 1000R (Spellman modelo CZE 30PN1000), estação cromatográfica (Data Apex Ltda, USA), bomba peristáltica com 13 canais, Ismatec, modelo mp 13GJ-4. Phmetro Marconi, modelo PA200, capilares de sílica fundida (Polymicro) com diâmetro interno 50, 75 e 100µm e externo de 375µm, sem recobrimento interno e comprimento de 59,0cm total e 24,0cm efetivos, eletrodo de platina para fechar circuito elétrico, suportes de madeira, vidrarias e outros materiais comuns a um laboratório analítico.

2.2 Reagentes

Os reagentes de grau analítico utilizados neste trabalho foram: hidróxido de sódio (F. Maia), ácido clorídrico (F. Maia), ácido ascórbico-L ($C_8H_8O_6$) (Q.M), ácido cítrico anidro ($C_8H_8O_7$) (Synth), ácido tartárico ($C_4O_6H_6$) (Reagen), ácido bórico ($C_{19}H_{42}BrN$) (Merck), brometo de cetil trimetil amônio (CTAB) (Vetec). Todas as soluções foram preparadas com água destilada.

2.3 Preparo das soluções padrão estoque e tampão

A solução de separação fora a solução tampão borato (pH 10,00) contendo 100mmol.L⁻¹ de ácido bórico e 0,5mmol.L⁻¹ de CTAB como inversor de fluxo. O pH da solução fora ajustado com solução 1mol.L⁻¹ de NaOH até atingir o pH desejado.

As soluções estoque contendo 2,0000g.100 mL⁻¹ de ácido cítrico, ácido ascórbico e ácido tartárico foram preparadas, diluídas para o preparo da curva analítica de calibração e analisadas. O sinal referente ao ácido e seu tempo de migração fora identificado utilizando solução padrão do ácido estudado.

2.4 Otimização das condições eletroforéticas para a separação e quantificação dos ácidos orgânicos em estudo (ácidos ascórbico, cítrico e tartárico).

A otimização dos parâmetros que influenciam as análises foram devidamente otimizados e discutidos.

2.4.1 Influência da diferença de potencial aplicado e do diâmetro interno do capilar sobre a separação das espécies

A influência da voltagem aplicada sobre a separação fora avaliada variando-se a voltagem entre 4kV e 12kV, alternando-as em intervalos de dois em dois kV.

Foram utilizados capilares com diâmetros internos de 50, 75 e 100µm e diâmetro externo de 375µm. O comprimento total do capilar usado nas análises foi de 59,0cm, sendo 24,0cm efetivos.

2.4.2 Curvas analíticas e testes de recuperação

As curvas analíticas de calibração foram construídas considerando concentração *versus* altura do sinal para as seguintes soluções:

- a) Ácido cítrico concentração entre 0,1000 a 0,2600g.100 mL⁻¹.
- b) Ácido cítrico concentração entre 0,0600 a 0,2200g.100 mL⁻¹.
- c) Ácido ascórbico-L (L-aa) concentração entre 0,0050 a 0,0250g 100 mL⁻¹.

Os testes de recuperação foram realizados adicionando-se quantidade conhecida do ácido às soluções das amostras. Os cálculos de concentração, bem como os cálculos de limite de detecção (S/R=3) e limite de quantificação (S/R=10), empregaram os dados obtidos a partir da curva analítica de calibração.

A identificação das espécies fora obtida por meio do tempo de migração das espécies e pela adição de quantidade conhecida dos ácidos às amostras de frutas (adição de padrão). Para verificar a influência do diâmetro interno na separação dos ácidos orgânicos, empregaram-se soluções mistas contendo ácido cítrico, tartárico e ascórbico.

2.4.3 Preparo das amostras

As amostras de frutas foram adquiridas nos mercados de Aracaju e Itabaiana e analisadas imediatamente ou congeladas em freezer a -5°C. O preparo das amostras envolvia algumas etapas: as frutas eram higienizadas com água da torneira e em seguida com água destilada e, posteriormente, retirava-se o extrato conforme o tipo de fruta, sempre a espremendo em peneira convencional antes de filtrar em papel de filtro. Os extratos foram diluídos para posterior quantificação dos ácidos nas mesmas. Foram quantificados ácidos orgânicos em amostras de frutas encontradas nos mercados de Aracaju e Itabaiana.

2.4.3.1 Suco de Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)

Foram selecionados 152,0000g da fruta que foram espremidos sob uma peneira convencional. Posteriormente, o suco fora filtrado em papel de filtro quantitativo. Após isso, obteve-se um

volume de suco de 92,0mL cuja massa era de 93,5872g. As amostras foram preparadas de acordo com o procedimento abaixo:

- a) 0,50 mL do extrato diluídos em 5,00mL de água.
- b) 0,50 mL do extrato + 0,1 g.100mL⁻¹ de ácido cítrico diluídos em 5,00mL de água.

Essas soluções foram então analisadas pelo sistema proposto.

2.4.3.2 Suco de Jambo vermelho (*S. malaccense*)

Foram selecionados aproximadamente 40,0000g da fruta que foram espremidos sob uma peneira convencional. Posteriormente, o suco fora filtrado em papel de filtro quantitativo. Após isso, obteve-se um volume de suco de 24,00mL cuja massa era de 24,4535g. As amostras foram preparadas de acordo com o procedimento abaixo:

- a) 1,00mL do extrato diluído em 5,00mL de água.
- b) 1,00mL do extrato + 0,1000g.100mL⁻¹ de ácido cítrico diluído em 5,00mL de água.

Essas soluções foram então analisadas pelo sistema proposto.

2.4.3.3 Suco de Seriguela (*Spondias purpurea*)

Foram selecionados aproximadamente 200,0000g da fruta que foram espremidos sob uma peneira convencional. Posteriormente, o suco fora filtrado em papel de filtro quantitativo. Após isso, obteve-se um volume de suco de 106,00 mL cuja massa era de 108,3254g. As amostras foram preparadas de acordo com o procedimento abaixo:

Para determinação de ácido cítrico:

- a) 10,00mL do extrato diluídos em 100,00mL de água.
- b) 10,00mL do extrato + 0,1000g.100mL⁻¹ de ácido cítrico diluídos em 100,00mL de água.

Para determinação de ácido ascórbico:

- a) 10,00mL do extrato diluídos em 25,00mL de água destilada.
- b) 10,00mL do extrato + 0,0100g.100mL⁻¹ de ácido cítrico diluídos em 100,00mL de água destilada.

Essas soluções foram então analisadas pelo sistema proposto.

2.4.3.4 Suco de Mangaba (*Hancornia speciosa*)

Foram selecionados 250,0000g da fruta que foram espremidos em uma peneira convencional. Posteriormente, o suco fora filtrado em papel de filtro quantitativo. Após isso, obteve-se um volume de suco de 187,00mL cuja massa era de 191,5421g. As amostras foram preparadas de acordo com o procedimento abaixo:

Para determinação de ácido cítrico:

- a) 10,00mL do extrato diluídos em 50,00mL de água.
- b) 10,00mL do extrato + 0,1000g.100 mL⁻¹ de ácido cítrico diluídos em 100,00mL de água destilada.

Para determinação de ácido ascórbico:

- a) 10,00mL do extrato diluídos em 50,00mL de água.
- b) 10,00mL do extrato + 0,0100g.100 mL⁻¹ de ácido cítrico diluídos em 100,00mL de água.

Essas soluções foram então analisadas pelo sistema proposto.

2.5 Condições para determinação eletroforética

Todas as análises empregaram injeção hidrodinâmica por gravidade¹⁵ das soluções mantendo-se os frascos a 4,50cm de altura por 15s. A voltagem de 8kV fora mantida em todos os experimentos. Para quantificação dos ácidos orgânicos em amostras de jabuticaba, seriguela, jambo e mangaba fora utilizado capilar de 75cm de diâmetro interno.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Otimização dos parâmetros eletroforéticos

A eletroforese capilar é uma técnica instrumental de análise que utiliza essencialmente um capilar de sílica fundida, preenchido com uma solução de eletrólito. As extremidades do capilar estão imersas em reservatórios contendo eletrólito e dois eletrodos de platina. Os eletrodos são conectados a uma fonte de alta tensão para fechar o circuito elétrico. Também são necessários um sistema de detecção e um dispositivo que permita a introdução da amostra no capilar. A separação está baseada na diferença das razões carga/raio de solutos iônicos tais como cátions e ânions inorgânicos e orgânicos¹⁶. Uma vez que a voltagem interfere no processo eletroforético, e esta não pode ser aumentada indiscriminadamente. O gráfico de voltagem (V) *versus* corrente (I) (Lei de *Ohm*) deve mostrar uma curva linear. Após alguns estudos envolvendo várias soluções, a voltagem de 8kV foi mantida em todos os estudos envolvendo capilares de 50, 75 e 100 μ m.

A solução eletrolítica contendo 100mmol.L⁻¹ de ácido bórico pH 10,00 e 0,5mmol.L⁻¹ de CTAB foi utilizada. O uso e escolha da solução tampão são de fundamental importância para o método, uma vez que os solutos em estudo têm caráter ácido, a mobilidade eletroforética do soluto depende do pH do eletrólito.

No caso dos ácidos orgânicos, faz-se a determinação e quantificação de espécies aniônicas, sendo necessário fazer injeções diferentes das que ocorrem no modo normal de Eletroforese (polo positivo na extremidade de injeção), realizando as injeções no polo negativo na extremidade de injeção (análises em contrafluxo). Além da realização das análises em contrafluxo, foi necessário o uso do agente surfactante CTAB que inverte o fluxo eletroosmótico de maneira a aumentar a velocidade eletroforética, tornando-a suficiente para sobrepor o fluxo eletroosmótico¹⁷.

O estudo empregando-se os capilares de 50, 75 e 100 μ m de diâmetro interno foi realizado avaliando-se tanto o perfil quanto a resolução dos picos. O modo de injeção utilizado foi o hidrodinâmico por gravidade por 15s e voltagem de separação aplicada de 8kV. A corrente variava de acordo com o diâmetro interno do capilar. Os sinais de corrente foram de 18 μ A para análises empregando coluna de 50 μ m, de 36 μ A para análises empregando coluna de 75 μ m e de 54 μ A para análises empregando coluna de 100 μ m.

Todas as colunas tinham comprimento total de 59,0cm total, sendo 24,0cm efetivos. O uso de capilares com pequenas dimensões (15-100cm) é necessário para evitar o efeito Joule, o qual é causado pela dificuldade de dissipar calor através do meio condutor¹⁸.

De acordo com os eletroferogramas da Figura 1, à medida que o diâmetro interno aumentou, houve diminuição do tempo de migração das espécies. O menor tempo de migração e a maior altura de sinal foi observado quando o capilar de 100 μ m foi utilizado. O tempo de migração das espécies aumentou e a altura de sinal diminuiu com a diminuição do diâmetro interno do capilar (50 μ m). Considerando tempo e altura de sinal, os resultados obtidos empregando o capilar de 75 μ m mostraram boa separação dos ácidos, boa sensibilidade e menor tempo de migração. Os eletroferogramas mostram esses estudos.

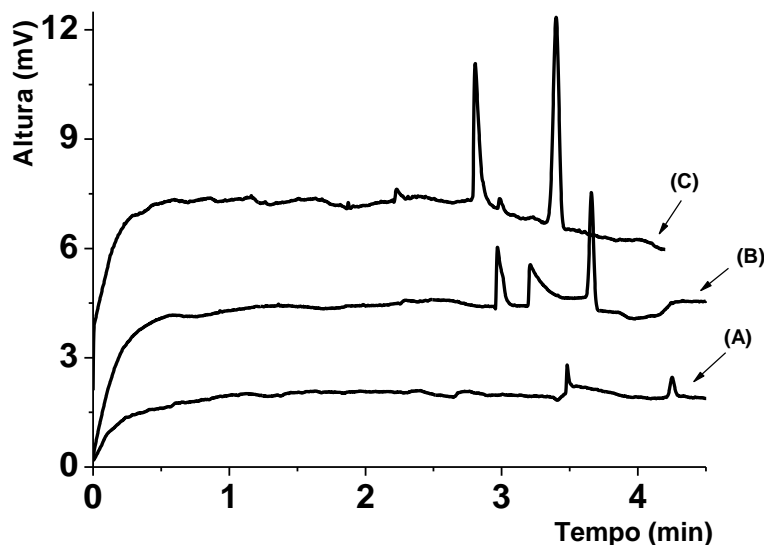


Figura 1. Eletroferogramas obtidos nas análises de soluções mistas contendo ácido cítrico, ácido tartárico e ácido ascórbico variando-se o diâmetro do capilar. (A) 50, (B) 75 e (C) 100 μm . Solução de ácido cítrico 0,0200 g.100mL⁻¹ + solução de ácido tartárico 0,0200 g.100mL⁻¹ + solução de ácido ascórbico 0,0200 g.100mL⁻¹. Condições: Tampão borato 100mmol.L⁻¹ de H₃BO₃ pH=10,00 e 0,5mmol.L⁻¹ de CTAB, $\lambda = 214\text{nm}$, 8kV, injeção 15 s.

3.2 Curvas analíticas de calibração e quantificação dos ácidos em amostras de frutas

A Tabela 1 mostra os parâmetros de validação do método, trazendo faixa linear de trabalho (F.T), equação da reta, coeficiente de correlação (r^2), limite de detecção (L.D= menor concentração da espécie que pode ser detectada) e limite de quantificação (L.Q= menor concentração da espécie que pode ser quantificada) das curvas que foram utilizadas para quantificação dos ácidos orgânicos em mangaba, jabuticaba, jambo e seriguela.

Tabela 1: Os dados foram obtidos a partir das análises dos sucos. Resultados são média (n=3) expressos em g.100 mL⁻¹.

	Jabuticaba	Jambo	Seriguela	Mangaba
F.T. (A.C) g.100mL ⁻¹	0,1000 a 0,2600	0,1000 a 0,2600	0,0600 a 0,2200	0,0600 a 0,2200
F.T. (L-aa) g.100mL ⁻¹	n.d	n.d	0,0050 a 0,0250	0,0050 a 0,0250
Eq. da reta (A.C)	y= -0,2117 + 19,6275x	y= 0,6975 + 17,2051x	y= -1,1288 + 25,4646x	y= -1,1288 + 25,4646x
Eq. da reta (L-aa)	n.d	n.d	y= -0,1725 + 115,6558x	y= -0,1725 + 115,6558x
r² (A.C)	0,9815	0,9444	0,9755	0,9755
r² (L-aa)	0,9907	0,9718	0,9980	0,9980
L.D g.100mL ⁻¹	3x10 ⁻⁴	2x10 ⁻⁴	3x10 ⁻³	2x10 ⁻³
L.Q g.100mL ⁻¹	1x10 ⁻³	6x10 ⁻⁴	10x10 ⁻³	5x10 ⁻³

Resultados são média para n=3.

Foram quantificados ácidos orgânicos em amostras de seriguela (*Spondias purpurea*), mangaba (*Hancornia speciosa*), jambo vermelho (*S. malaccense*) e jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). Abaixo estão os eletroferogramas usados para quantificar os ácidos por CZE. Todas as figuras abaixo mostram os eletroferogramas obtidos a partir das análises de sucos com e sem adição de padrão.

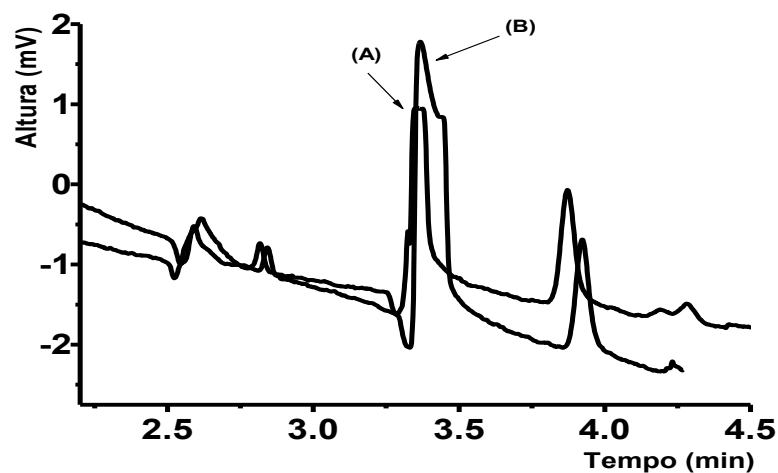


Figura 2: Eletroferogramas obtidos a partir da análise de suco de jabuticaba: (A) 0,50mL do extrato de jabuticaba diluídos em 5,00mL; (B) 0,50mL do extrato de jabuticaba + 0,1000 g.100mL⁻¹ de ácido cítrico diluído em 5,00mL. Outras condições ECZ como figura 1.

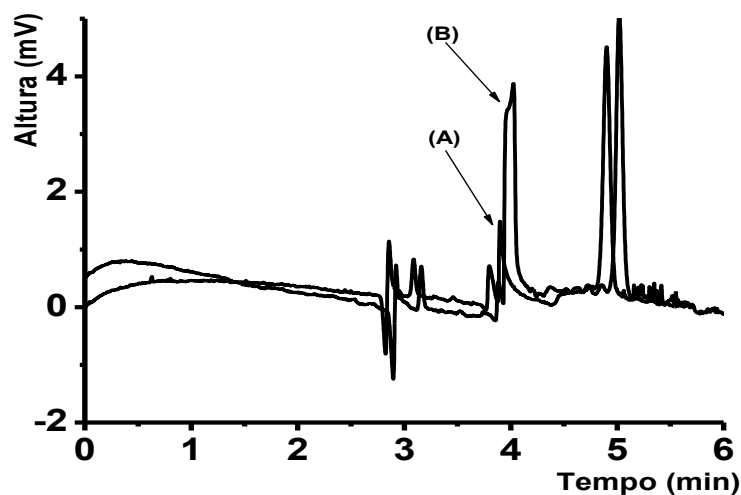


Figura 3: Eletroferogramas obtidos a partir da análise de suco de jambo: (A) 1,00mL do extrato de jambo diluído em 5,00mL; (B) 1,00mL do extrato de jambo + 0,1000g.100mL⁻¹ de ácido cítrico diluídos em 5,00 mL. Outras condições ECZ como figura 1.

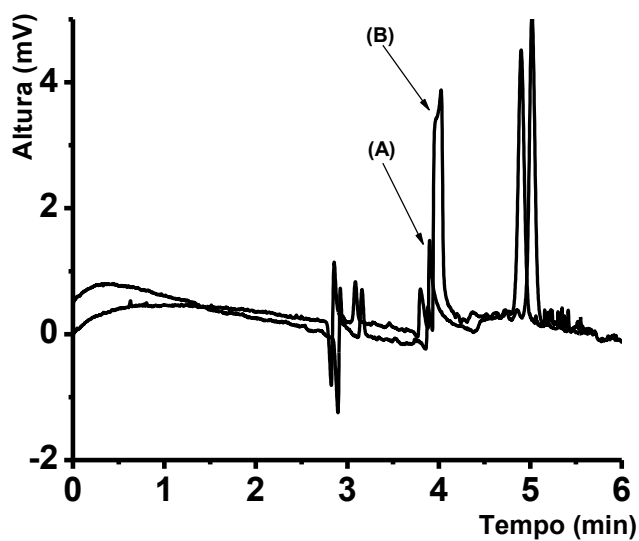


Figura 4: Eletroferogramas obtidos a partir da análise de suco de seriguela: (A) 10,00mL do extrato de seriguela diluídos em 100,00mL; (B) 10,00mL do extrato de seriguela + 0,1000g.100 mL⁻¹ de ácido cítrico diluídos em 100,00mL. Outras condições ECZ como figura 1.

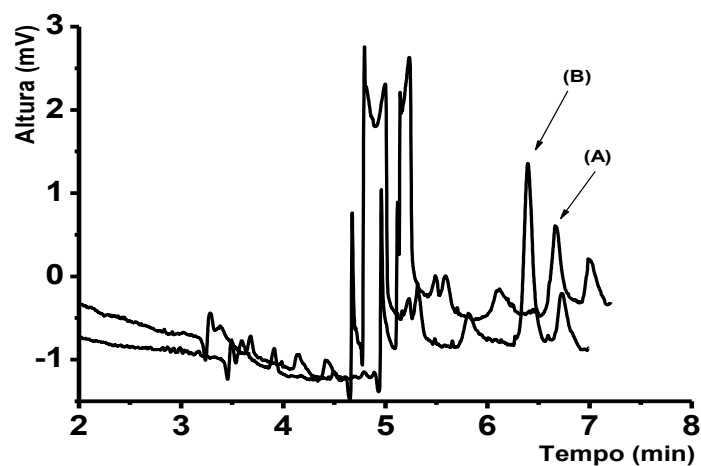


Figura 5: Eletroferogramas obtidos a partir da análise de suco de seriguela: (A) 10,00mL do extrato de seriguela diluídos em 25,00mL; (B) 10,00mL do extrato de seriguela + 0,010 g.100 mL⁻¹ de L-aa diluídos em 25,00mL. Outras condições ECZ como figura 1.

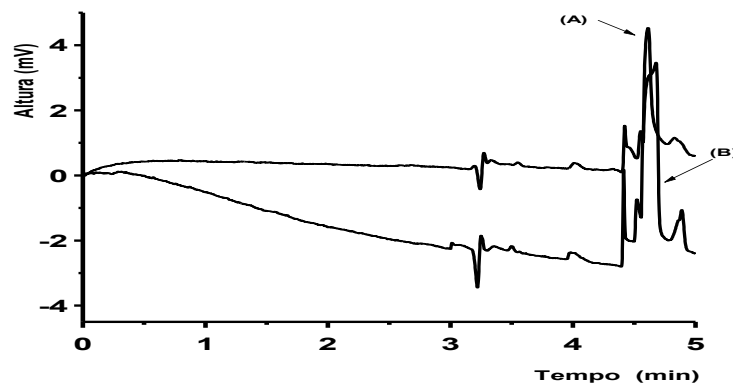


Figura 6: Eletroferogramas obtidos a partir da análise de suco de mangaba: (A) 10,00mL do extrato de mangaba diluídos em 50,00mL; (B) 10,00mL do extrato de seriguela + 0,1000g.100 mL⁻¹ de ácido cítrico diluídos em 50,00mL. Outras condições ECZ como figura 1.

Além do ácido cítrico identificou-se o pico referente ao ácido ascórbico em suco de mangaba.

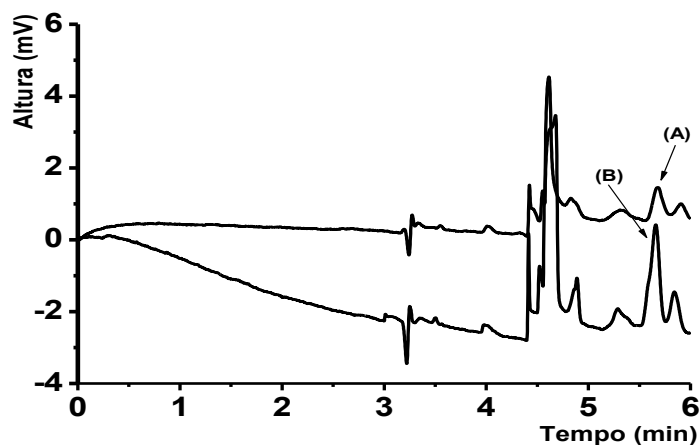


Figura 7: Eletroferogramas obtidos a partir da análise de suco de mangaba: (A) 10,00mL do extrato de mangaba diluídos em 50,00mL; (B) 10,00mL do extrato de seriguela + 0,0100g.100 mL⁻¹ de L-aa diluídos em 50,00mL. Outras condições ECZ como figura 1.

Os valores das concentrações dos ácidos orgânicos determinados em todas as frutas estudadas estão mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Concentração de ácido cítrico e de ácido ascórbico (mol.L⁻¹) em amostras de frutas.

Fruta	Ácido cítrico	Ácido ascórbico	Recuperação (%)	
			Ac. Cítrico	Ac. ascórbico
Jaboticaba	$6,02 \times 10^{-2} \pm 0,54 \times 10^{-2}$	n.d.	$103,9 \pm 1,0$	n.d.
Jambo	$3,47 \times 10^{-2} \pm 0,17 \times 10^{-2}$	n.d.	$94,2 \pm 1,2$	n.d.
Seriguela	$7,22 \times 10^{-2} \pm 0,16 \times 10^{-2}$	$2,21 \times 10^{-3} \pm 0,00 \times 10^{-3}$	$96,5 \pm 1,4$	$94,4 \pm 1,3$
Mangaba	$1,12 \times 10^{-2} \pm 0,24 \times 10^{-2}$	$2,52 \times 10^{-3} \pm 0,00 \times 10^{-3}$	$86,2 \pm 1,1$	$86,5 \pm 1,2$

Média \pm desvio padrão (n=3). n.d = abaixo do L.D.

4. CONCLUSÃO

O método proposto mostrou-se adequado para realizar determinações de ácidos orgânicos em amostras de frutas. A partir dos resultados concluiu-se que as melhores condições de análise são a utilização de capilar de 75 μ m, de voltagem de 8 kV (36 μ A), de solução contendo 100mmol.L⁻¹ de H₃BO₃ pH 10,00 e 0,5mmol.L⁻¹ de CTAB. O tempo de análise, resolução dos picos, repetibilidade e minimização dos efluentes gerados são algumas características que tornam a técnica atrativa para uso em laboratório de análises químicas, lembrando a mínima quantidade de reagentes e solventes utilizados.

1. ALMEIDA SILVA, J. L. A.; OLIVEIRA SILVA, J. M. N.; OLIVEIRA, T. A.; AROUCHA, E. M.M.; LEITE, R. H. L. Extração de ácidos de diferentes frutas utilizando sons de baixa frequência. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, Cuiabá (2010).
2. SILVA, F. A. M.; NOGUEIRA, F. D.; GUIMARÃES, P. T. G.; GODINHO, A.; MALTA, M. R. Determinação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular na Rizosfera de cafeeiro por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). *Ciência Agrotécnica*, 1391-1395 (2002).
3. FIORUCCI, A. R.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Ácidos orgânicos: dos primórdios da Química Experimental à sua presença em nosso cotidiano. *Química Nova na Escola* 15: 6-10 (2002).
4. ANDRADE, P.F.S. Análise da conjuntura agropecuária Safra 2011/2012. Disponível em http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/fruticultura_2011_12.pdf. Acesso em: 12 abril 2013.
5. Fruticultura. Disponível em http://economianordeste.opovo.com.br/estados/se/se_setoresFruticultura/. Acesso em: 25 nov 2012.
6. COLOMBARA, R.; TAVARES, M.F.; MASSARO, S. Determinação simultânea de ânions por eletroforese capilar: características e aplicações. *Química Nova* 20: 512-515 (1997).
7. KLAMPFL, C. W.; BUCHBERGER, W. ; HADDAD, P. R.. Determination of organic acids in food samples by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography* 881:357-364 (2000).
8. PERES, R.G.; MORAES, E.P.; MICKÉ, G.A.; TONIN, F.G.; TAVARES, M.F.M.; RODRIGUEZAMAYA, D.B. Rapid method for the determination of organic acids in wine by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *Food Control* 20:548-552 (2009).
9. ROVIO, S.; KALLIOLA, A.; SIRÉN, H.; TAMMINEN, T. Determination of the carboxylic acids in acidic and basic process samples by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A* 217:1407-1413 (2010).
10. SAAVEDRA L.; GARCÍA, A.; BARBAS, C. Development and validation of a capillary electrophoresis method for direct measurement of isocitric, citric, tartaric and malic acids as adulteration markers in orange juice. *Journal of Chromatography A*, 881:395-401 (2000).
11. RIVASSEAU, C.; BOISSON, A-M.; MONGÉLARD, G.; COURAM, G.; BASTIEN, O.; BLIGNY, R. Rapid analysis of organic acids in plant extracts by capillary electrophoresis with indirect UV detection: Directed metabolic analyses during metal stress. *Journal of Chromatography A* 1129: 283- 290 (2006).
12. MATO, I.; SUÁREZ-LUQUE, S.; HUIDOBRO, J.F. Simple determination of main organic acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. *Food Chemistry*, 102: 104-112 (2007).
13. MATO, I.; HUIDOBRO, J.F.; SIMAL-LOZANO, J.; SANCHO, M.T.. Simultaneous determination of organic acids in beverages by capillary zone electrophoresis. *Analytica Chimica Acta* 565:190-197 (2006).
14. CARVALHO, J. M. V. Dissertação de mestrado: Desenvolvimento de um método para determinação de ácidos orgânicos em sucos de frutas utilizando a eletroforese capilar de zona (ECZ). Departamento de Química. Universidade Federal de Sergipe, 10/03/2010.
15. TAVARES, F. M. Mecanismos de separação em eletroforese capilar. *Química Nova* 20:493-511 (1997).
16. GERVASIO, A. P.; LAVORANTE, A. F.; MORAES, M. C. B.; GINÉ, M. F. Eletroforese Capilar acoplada à Espectrometria com plasma: uma ferramenta eficiente para a especiação. *Química Nova* 26:65-74 (2003).
17. JAGER, A. V.; TAVARES, M. F. M. Determinação simultânea de cátions por Eletroforese Capilar: fundamentos e aplicações. *Química Nova* 24:363-373 (2001).
18. TAVARES, M. F. M. Eletroforese capilar: conceitos básicos. *Química Nova* 19:173-181 (1996).