

**INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL**

**JOÃO PAULO PINHEIRO BRUNETTI
RODOLFO PAULO STANKE FILHO**

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DE MÉTODOS PARA ANÁLISE DE CREATINA

Vila Velha
2024

JOÃO PAULO PINHEIRO BRUNETTI
RODOLFO PAULO STANKE FILHO

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DE MÉTODOS PARA ANÁLISE DE CREATINA

Monografia apresentada à Coordenadoria do Curso de Química Industrial do Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Vila Velha, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Vila Velha
2024

(Biblioteca do Campus Vila Velha)

B895r Brunetti, João Paulo Pinheiro.

Revisão bibliográfica de métodos para análise de creatina / João Paulo Pinheiro Brunetti, Rodolfo Paulo Stanke Filho. - 2024.

79 f. : il ; 28 cm.

Orientador: Vitor Cezar Broetto Pegoretti

TCC (Graduação) Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Vila Velha, Curso de Química Industrial, 2024.

1. Creatina. 2. Espectroscopia de infravermelho. 3. Química Analítica. I. Pegoretti, Vitor Cezar Broetto. II. Stanke Filho, Rodolfo Paulo. III. Título IV. Instituto Federal do Espírito Santo.

CDD: 543.0873

Bibliotecário/a: Hermelinda Peixoto Pereira Martins CRB6-ES nº 522



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CAMPUS VILA VELHA

ANEXO III – ATA DE DEFESA DE TCC

Aos cinco dias do mês de julho do ano de 2024, a banca presidida pelo professor Vitor Cezar Broetto Pegoretti e composta por Araceli Verônica Flores Nardy Ribeiro e Hildegardo Seibert França reuniu-se para a defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “Revisão Bibliográfica de métodos para análise de creatina” apresentado por João Paulo Pinheiro Brunetti e Rodolfo Paulo Stanke Filho do Curso Superior de Bacharel em Química Industrial. Após a apresentação do trabalho e arguição, a banca examinadora deliberou concluindo pela **APROVAÇÃO** do Trabalho de Conclusão de Curso, desde que o(s) estudante(s) entreguem o Trabalho de Conclusão de Curso corrigido, conforme as considerações realizadas pela Banca Examinadora e sob supervisão do orientador, à Biblioteca Zilma Coelho Pinto do Ifes/Vila Velha, como requisito necessário para solicitação de colação de grau. A banca examinadora, ainda, atribuiu nota **NOVE (9,0)** ao trabalho.

Vila Velha-ES, 05 de Julho de 2024

Após defesa do TCC, a ata e a ficha de avaliação deverão ser cadastrados pelo professor de TCC no Sistema Integrado de Patrimônio, Administração e Contratos do Ifes (Sipac) e assinado digitalmente pelo orientador, coorientador, estudantes envolvidos com o TCC e membros da banca examinadora.



ATA Nº 1/2024 - VVL-CBEQUIMICA (11.02.34.01.08.02.12)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 09/07/2024 11:34)
ARACELI VERÔNICA FLORES NARDY RIBEIRO
PROFESSOR DO ENSINO BASICO TECNICO E TECNOLOGICO
VVL-CMPQ (11.02.34.01.07.02.01)
Matrícula: 1509696

(Assinado digitalmente em 09/07/2024 08:53)
HILDEGARDO SEIBERT FRANCA
PROFESSOR DO ENSINO BASICO TECNICO E TECNOLOGICO
VVL - CCBB (11.02.34.01.08.02.10)
Matrícula: 1435888

(Assinado digitalmente em 08/07/2024 15:28)
VITOR CEZAR BROETTO PEGORETTI
PROFESSOR DO ENSINO BASICO TECNICO E TECNOLOGICO
VVL-CBEQUIMICA (11.02.34.01.08.02.12)
Matrícula: 1333637

Visualize o documento original em <https://sipac.ifes.edu.br/documentos/> informando seu número: **1**, ano: **2024**, tipo:
ATA, data de emissão: **08/07/2024** e o código de verificação: **ab612aace9**

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Declaramos, para fins de pesquisa acadêmica, didática e técnico-científica, que este Trabalho de Conclusão de Curso pode ser parcialmente utilizado, desde que se faça referência à fonte e aos autores.

Vila Velha, 05 de Julho de 2024.

João Paulo Pinheiro Brunetti

Rodolfo Paulo Stanke Filho

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus por permitir que esta monografia pudesse ser concluída e por ter pavimentado e caminhado conosco nesta jornada tão importante que foi a graduação. Também gostaríamos de expressar nossa profunda gratidão e apreço aos nossos pais e mães, às nossas famílias, namoradas e a todos os professores, tutores e amigos que conquistamos durante esta caminhada. Queremos agradecer pelo apoio, ensinamentos e conselhos tão fundamentais para nossa formação acadêmica, profissional e, especialmente, pessoal. Dedicamos este trabalho às nossas famílias, que representam o significado de amor e fortaleza para nós.

Gostaríamos de expressar nossa gratidão e respeito a dois professores que foram alicerces para nossa formação educacional, personificando para nós o que é ser um excelente profissional, mas principalmente, o que é ser um excelente ser humano, nos contemplando com valores e ensinamentos que serão valiosos por todas as nossas vidas. Primeiramente, ao nosso orientador Vitor Cezar Broetto Pegoretti, por nos aconselhar e acolher durante essa etapa de conclusão do curso, sendo um mentor e amigo valioso durante esses momentos. Por fim, gostaríamos de prestar nossa pequena homenagem ao professor Paulo Cezar Cagliari, que foi parte tanto em inspiração quanto em exemplo de profissional. Gostaríamos, do fundo de nossos corações, que o senhor pudesse estar presente neste momento tão importante, mas sempre seremos gratos por termos tido a oportunidade de receber conselhos e lições valiosas com o senhor. Que possamos sempre carregar conosco cada ensinamento, de modo que possamos nos tornar uma parcela do profissional que o senhor acreditava que pudéssemos ser.

Para encerrar, gostaríamos de agradecer ao IFES, aos colegas, servidores, coordenadora e todos os responsáveis por manter este ambiente tão proveitoso e acolhedor. Graças a todos, pudemos ver amigos e pessoas que nos inspiram realizarem seus sonhos de se tornarem profissionais graduados em Química Industrial. Agora, estaremos nós atingindo este tão sonhado objetivo, que foi conquistado com muito esforço e dedicação. Muito obrigado a todos!

João Paulo e Rodolfo

"Deixe o futuro dizer a verdade, e avaliar cada um de acordo com seu trabalho e realizações. O presente é deles; o futuro, pelo qual eu realmente trabalhei duro, é meu."

(Nikola Tesla)

RESUMO

O consumo crescente de suplementos entre atletas de diversas modalidades tem ganhado notoriedade nos últimos anos. Entre os suplementos mais populares está a creatina, frequentemente comercializada em sua forma monoidratada. No entanto, como qualquer produto suplementar, a creatina está sujeita a possíveis não conformidades em sua composição, o que levanta preocupações sobre sua qualidade e segurança. Para abordar esses desafios, a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) se apresenta como uma técnica eficiente para a análise do teor de creatina. Este trabalho tem como objetivo principal propor um experimento para quantificar o teor de creatina em amostras comerciais, utilizando um espectrofotômetro de infravermelho próximo. A metodologia escolhida para o desenvolvimento do trabalho e seleção das referências bibliográficas foi a revisão integrativa. O desenvolvimento metodológico permitiu um levantamento bibliográfico baseado na pesquisa em artigos científicos e bases de dados especializados. A revisão integrativa permitiu a síntese de informações de diversas fontes, contribuindo para uma melhor compreensão do uso da espectroscopia NIR na quantificação da creatina. Este trabalho busca não apenas propor uma metodologia para a análise do teor de creatina, mas também oferecer uma comparação entre os métodos existentes, com base em evidências coletadas da literatura científica. A espectroscopia de infravermelho próximo se destaca como uma ferramenta promissora para garantir a qualidade e a conformidade dos suplementos de creatina no mercado.

Palavras-chave: Creatina, Espectroscopia, Infravermelho Próximo, Infravermelho, Química Analítica, Cromatografia, Ressonância Magnética Nuclear, Raman, Termogravimetria, Colorimetria, Análise Instrumental.

ABSTRACT

The increase in the utilization of food supplements by athletes in multiple sports modalities has gained major significance in recent years. Thus making creatine, often commercialized in its monohydrate form, one of the most popular supplements. However, like any supplementary product, creatine is subject to potential non-conformities in its composition, raising concerns about its quality and safety. To address these challenges, near-infrared (NIR) spectroscopy emerges as an efficient technique for analyzing creatine content. This study primarily aims to propose an experiment to quantify the creatine content in commercial samples using a near-infrared spectrophotometer. An integrative review method was applied to develop the study and select relevant scientific references. This methodological approach enabled a comprehensive literature review based on research in scientific articles and specialized databases. Therefore simplifying the synthesis of information from several sources, that contribute for a better understanding of the use of NIR spectroscopy in creatine quantification. This study seeks not only to propose a methodology for the analysis of creatine content but also to offer a comparison of existing methods based on evidence collected from the scientific literature. Near-infrared spectroscopy stands out as a promising tool to ensure the quality and compliance of creatine supplements on the market.

Keywords: Creatine, Spectroscopy, Near-Infrared, Infrared, Analytical Chemistry, Chromatography, Nuclear Magnetic Resonance, Raman, Thermogravimetry, Colorimetry, Instrumental Analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Estrutura molecular da Creatina. | 21 |
| Figura 2 – Gramas de creatina solúveis em 1 litro de água conforme aumento da temperatura. | 26 |
| Figura 3 – Rotas de Síntese da Creatina. | 27 |
| Figura 4 – Fluxograma da Síntese Industrial da Creatina | 28 |
| Figura 5 – Estrutura de um espectrofotômetro IR | 29 |
| Figura 6 – Interferograma representativo | 32 |
| Figura 7 – Espectro representativo | 32 |
| Figura 8 – Espectro Infravermelho da Creatina | 37 |
| Figura 9 – Espectro NIR da Creatina | 39 |
| Figura 10 – Espectro Raman da Creatina | 41 |
| Figura 11 – Sinal da ressonância magnética nuclear | 48 |
| Figura 12 – Espectro RMN | 50 |
| Figura 13 – Gráfico Termogravimétrico para creatina: (a) monohidratada não tratada, (b) monohidratada pulverizada, (c) anidra não tratada, (d) anidra pulverizada | 54 |
| Figura 14 – Artigos referentes a creatina e infravermelho publicados no Web Of Science nos anos de 2000 até 2024. | 62 |
| Figura 15 – Artigos referentes a creatina e infravermelho publicados no Scopus nos anos de 2000 até 2024. | 63 |
| Figura 16 – Gráfico representativo dos percentuais das diluições dos padrões para a construção da curva de calibração. | 70 |
| Figura 17 – Estrutura Química Maltodextrina. | 71 |
| Figura 18 – Espectro NIR da Maltodextrina | 71 |
| Figura 19 – Espectro NIR da Cafeina | 73 |

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Quadro demonstrativo das particularidades dos métodos analíticos. 68

LISTA DE SIGLAS

ADP - Adenosina Difosfato

AMP - Adenosina Monofosfato

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

API - Ingredientes Farmacêuticos Ativos

ATP - Adenosina Trifosfato

CG-EM - Cromatografia Gasosa - Espectrômetro de Massas

CLAE-EM - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - Espectrômetro de Massas

DSC - Calorimetria Exploratória Diferencial

et al - et alii

FIR - Infravermelho Distante

FTIR - Transformada de Fourier por Infravermelho

GC - "Gas Chromatography"

IES - Ionização por Electrospray

IR - Infravermelho

LED - Diodo Emissor de Luz

MIR - Infravermelho Médio

NIR - Infravermelho Próximo

PCA - Análise de Componente Principal

PFB-Br - Pentafluorobenzol brometo

PNPG - p-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo

RESS - Rápida Expansão de Solução Supercrítica

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

TCC - Trabalho de Conclusão de Curso

TGA - Análise Termogravimétrica

UV-VIS - Ultravioleta Visível

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 | OBJETIVOS | 18 |
| 2.1 | OBJETIVOS GERAIS | 18 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 18 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 19 |
| 3.1 | LEGISLAÇÃO E RISCO À SAÚDE PÚBLICA | 19 |
| 3.2 | CREATINA | 20 |
| 3.2.1 | Estrutura Química e Origem | 20 |
| 3.2.2 | Suplemento Alimentar e Biomolécula | 21 |
| 3.2.3 | Propriedades Físico-Químicas da Creatina | 23 |
| 3.2.4 | Síntese e Produção da Creatina | 27 |
| 3.3 | TÉCNICAS ANALÍTICAS | 29 |
| 3.3.1 | Métodos Espectroscópicos | 29 |
| 3.3.1.1 | Infravermelho | 29 |
| 3.3.1.1.1 | <i>Avanços Tecnológicos</i> | 33 |
| 3.3.1.1.2 | <i>Infravermelho Próximo e Miniaturização</i> | 34 |
| 3.3.1.1.3 | <i>Espectroscopia de Infravermelho aplicada à Análise de Creatina</i> | 36 |
| 3.3.1.2 | Raman | 39 |
| 3.3.1.2.1 | <i>Aplicação na Análise de Creatina</i> | 40 |
| 3.3.1.3 | Espectroscopia Ultravioleta-Visível | 42 |
| 3.3.1.3.1 | <i>Aplicação na Análise de Creatina</i> | 43 |
| 3.3.2 | Métodos Cromatográficos | 44 |
| 3.3.2.1 | Cromatografia Líquida | 45 |
| 3.3.2.1.1 | <i>Aplicação na Análise de Creatina</i> | 45 |
| 3.3.2.2 | Cromatografia Gasosa | 46 |
| 3.3.2.2.1 | <i>Aplicação na Análise de Creatina</i> | 46 |
| 3.3.3 | Ressonância Magnética Nuclear | 48 |
| 3.3.3.1 | Aplicação na Análise de Creatina | 49 |
| 3.3.4 | Colorimetria | 51 |
| 3.3.4.1 | Aplicação na Análise de Creatina | 52 |
| 3.3.5 | Termogravimetria | 52 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 3.3.5.1 | Aplicação na Análise de Creatina | 53 |
| 3.4 | QUIMIOMETRIA | 55 |
| 3.4.1 | Vantagens da Quimiometria | 56 |
| 3.4.2 | Construção da Curva de Calibração | 57 |
| 4 | METODOLOGIA | 59 |
| 4.1 | IDENTIFICAÇÃO DO PROBLEMA | 59 |
| 4.2 | BUSCA DA LITERATURA E SELEÇÃO DOS ESTUDOS | 59 |
| 4.3 | EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE DADOS | 60 |
| 4.4 | SÍNTESE DOS RESULTADOS | 60 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 62 |
| 5.1 | RESULTADOS BIBLIOMÉTRICOS DAS PRINCIPAIS BASES DE DA- DOS | 62 |
| 5.2 | LEGISLAÇÃO | 64 |
| 5.3 | ASPECTOS DA CREATINA | 65 |
| 5.4 | ANÁLISE DE CREATINA POR INFRAVERMELHO PRÓXIMO | 66 |
| 5.5 | COMPARAÇÃO COM OUTROS MÉTODOS ANALÍTICOS | 67 |
| 5.6 | QUIMIOMETRIA NA ANÁLISE DE DADOS | 68 |
| 5.7 | PROPOSIÇÃO DE EXPERIMENTO PARA ANÁLISE DE CREATINA EM PÓ POR ESPECTROSCOPIA NIR | 69 |
| 5.7.1 | Objetivo do Experimento | 69 |
| 5.7.2 | Materiais e Métodos | 69 |
| 5.7.3 | Procedimento Experimental | 70 |
| 6 | CONCLUSÃO | 74 |
| | REFERÊNCIAS | 75 |

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, um aumento significativo no consumo de suplementos por atletas de diversas modalidades vem tomando certa notoriedade. Esse crescimento está relacionado à busca por melhorias no desempenho físico e na recuperação pós-exercício. A evolução dos suplementos esportivos, desde substâncias tradicionais até novas descobertas científicas, evidencia a constante inovação nesse campo e a crescente disseminação de informações sobre a importância da suplementação adequada para melhorar a performance. Tal aumento destaca a importância da informação e responsabilidade em relação ao uso desses produtos para otimizar o desempenho esportivo e manter a saúde dos praticantes. (ALONSO; FERNÁNDEZ-GARCÍA, 2020)

Nesse cenário, a crescente busca por uma melhor qualidade de vida, a prevenção e recuperação de doenças e o desejo por uma estética corporal aprimorada têm levado muitas pessoas a adotarem a prática regular de exercícios físicos. No entanto, para alcançar melhorias substanciais no corpo e desfrutar dos benefícios à saúde associados, o fator dietético se torna crucial. (SILVA; SOUZA, 2016)

A importância da suplementação alimentar se destaca ainda mais, devido à praticidade oferecida por esses produtos e à sua disponibilidade em diversas formas no mercado, como cápsulas, pó, gel e tabletes. Isso tem contribuído para um aumento significativo no consumo por parte daqueles que buscam complementar sua dieta. Além disso, a produção e comercialização desses produtos são favorecidas pela ampla variedade de compostos disponíveis. Um dos suplementos mais conhecidos, a creatina, é vendida em sua forma monohidratada, porém outras variantes como piruvato de creatina, citrato de creatina, malato de creatina, piroglutamato de creatina e gluconato de creatina também estão disponíveis no mercado. (LEITE *et al.*, 2015) (ANDRES *et al.*, 2017)

Sendo frequentemente procurada por praticantes de atividades físicas intensas, a creatina é associada à sua capacidade de aumentar a força, a potência muscular e promover ganhos incrementais de massa muscular. Além disso, estudos discutem o papel da creatina na redução da fadiga e no aprimoramento do desempenho anaeróbico, especialmente em exercícios de curta duração e alta intensidade, contribuindo diretamente para a hipertrofia muscular. (TEIXEIRA *et al.*, 2020)

A comercialização disseminada da creatina como suplemento alimentar e esportivo no mercado atual destaca a importância de realizar testes de pureza para determinar sua concentração (FEIZI *et al.*, 2022) Uma vez que a diversidade e a complexidade dos suplementos disponíveis aumentam, a garantia da qualidade e segurança desses produtos se torna uma prioridade. É essencial, portanto, a utilização de métodos analíticos robustos para determinar com precisão quais e quantas substâncias estão contidas nos suplementos alimentares. Esses métodos permitem não só a verificação da conformidade com os rótulos, mas também a identificação de possíveis contaminantes ou adulterações, assegurando a integridade e eficácia dos produtos oferecidos aos consumidores.

Dentre os métodos analíticos disponíveis, o equipamento miniaturizado de infravermelho próximo (NIR) destaca-se como uma excelente opção. Esse método possui várias vantagens significativas, como a não necessidade de preparo de amostra, o que simplifica e acelera o processo de análise. Além disso, por ser portátil, o NIR pode ser levado para qualquer local, facilitando a realização de análises em campo ou em ambientes diversos. Outra vantagem crucial é que esse método não destrói a amostra, permitindo que ela seja utilizada para outras avaliações ou devolvida ao lote original. Comparado a outros métodos analíticos, o NIR oferece resultados rápidos, tornando-se uma ferramenta eficiente e prática para garantir a qualidade e segurança dos suplementos alimentares. (SHAW *et al.*, 1996) (JERÔNIMO *et al.*, 2012) (BURNS; A; W, 2007)

Embora os métodos espectroscópicos tenham a capacidade de fazer uma boa caracterização, alguns destes, sobretudo o infravermelho próximo, necessitam ser associados a métodos estatísticos de tratamento de dados, sendo possível fazer um manejo mais eficaz da crescente quantidade de dados gerados por esses instrumentos analíticos. Ao empregar técnicas quimiométricas, é possível não apenas aumentar a produtividade e/ou reduzir os custos operacionais, mas também melhorar significativamente a qualidade dos dados obtidos. Ademais, a quimiometria contribui para a melhoria da precisão e da veracidade dos resultados, garantindo que as análises sejam mais confiáveis e robustas. Este aprimoramento na interpretação dos dados é crucial para avançar na pesquisa científica e na aplicação prática em diversas áreas industriais e

laboratoriais. (OTTO, 2023)

Este trabalho traz em seu conteúdo uma abordagem para o estudo da análise de creatina por meio de técnicas de espectroscopia no infravermelho próximo (NIR ou micro-NIR) e um planejamento experimental a esse respeito. Abrangendo as principais técnicas analíticas aplicadas à análise de creatina, este estudo evidencia as vantagens quanto ao uso do equipamento de infravermelho próximo quando comparado à aplicação de outros métodos analíticos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Fazer uma revisão bibliográfica de técnicas empregadas para identificação e quantificação de creatina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Apresentar os métodos empregados para identificação e quantificação de creatina
- Evidenciar metodologias de análise de creatina usando NIR em trabalhos da literatura científica
- Verificar a importância da quimiometria para a aplicação conjunta com o infravermelho próximo.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 LEGISLAÇÃO E RISCO À SAÚDE PÚBLICA

A falta de definição legal quanto aos suplementos alimentares acarretava desafios na fiscalização, resultando em potenciais riscos à saúde dos consumidores. Esta lacuna regulatória facilitava a comercialização de suplementos contendo substâncias proibidas, tais como efedrina e 1,3-dimetilamilaína. De modo complementar, a ausência de metodologias oficiais para análise destes produtos no Brasil levantava dúvidas acerca de sua qualidade e segurança, contribuindo para casos de fraude ao consumidor, como discrepâncias entre as informações declaradas nos rótulos e os valores reais identificados após análise pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (MOLIN *et al.*, 2019b)

Os desafios enfrentados pela saúde pública no Brasil em relação ao uso e consumo de suplementos alimentares são complexos e multifacetados. Entre os problemas mais críticos estão o consumo sem a orientação adequada de profissionais de saúde, a falta de uma regulamentação mais rígida para esses produtos e a alta disponibilidade de suplementos no mercado, facilitando o acesso irrestrito. Além disso, a fiscalização existente é insuficiente para cobrir a vasta quantidade de suplementos alimentares disponíveis, o que permite a circulação de produtos sem a devida certificação de segurança. Atuando como um agravante da situação, há uma carência de políticas eficazes de educação e conscientização, resultando em uma população pouco informada sobre os riscos associados ao uso indiscriminado de suplementos alimentares. (MOLIN *et al.*, 2019a)

Nesse contexto, a problemática acerca da ausência de regulamentações rigorosas por parte dos órgãos governamentais propicia incertezas quanto à sua aquisição e consumo por parte da população. De modo que, até 2018, a ausência de definições legais para os suplementos alimentares resultava na classificação destes produtos em diversas categorias regulatórias. Estas incluíam alimentos para atletas, suplementos vitamínicos, minerais, novos alimentos e/ou ingredientes, alimentos de propriedade funcional e/ou de saúde, medicamentos específicos e fitoterápicos. (MOLIN *et al.*, 2019a) (SILVA; JUNIOR, 2020)

A fim de aprimorar a regulação das categorias de suplementos alimentares e garantir maior clareza e consistência no processo de fiscalização, foram estabelecidas medidas normativas. A Resolução RDC N° 243, datada de 26 de julho de 2018, foi concebida pela ANVISA para definir os requisitos essenciais para essa classe de produtos e para unificar as diversas categorias alimentares previamente existentes. Em paralelo, a Instrução Normativa IN N° 28, emitida na mesma data e pelo mesmo órgão, desempenhou um papel complementar ao fornecer informações cruciais, como a lista de constituintes permitidos, diretrizes sobre aditivos complementares, requisitos de rotulagem e procedimentos de regularização dos suplementos alimentares. (ALIMENTOS *et al.*, 2021)

A ANVISA traz a Resolução RDC N° 18, de 27 de abril de 2010, referente aos alimentos destinados para atletas e, no caso da creatina, é informado que é permitida a adição de carboidratos ao produto, sendo que a dose descrita deve contemplar entre 1,5 e 3,0 gramas de creatina. Insta ressaltar que a resolução não delimitou a quantidade de carboidratos e, dessa forma, diversas marcas vendem o produto misturado a carboidratos como a maltodextrina. De acordo com a Resolução RDC 360/03 também da ANVISA, datada de 23 de dezembro de 2003, “Será admitida uma tolerância de +/- 20% com relação aos valores de nutrientes declarados no rótulo”.

Para tal, a necessidade de estabelecer normativas e resoluções relacionadas à suplementação alimentar, especialmente no contexto dos suplementos para atletas, tornou-se crucial devido ao crescimento da prática de musculação e ao incentivo à atividade física. Isso gerou uma valorização para com a qualidade da alimentação da população, resultando em um aumento significativo no consumo desses produtos. Dentre eles, a creatina se destaca como um dos suplementos esportivos amplamente utilizados pelo público envolvido em atividades físicas. (GUALANO *et al.*, 2010)

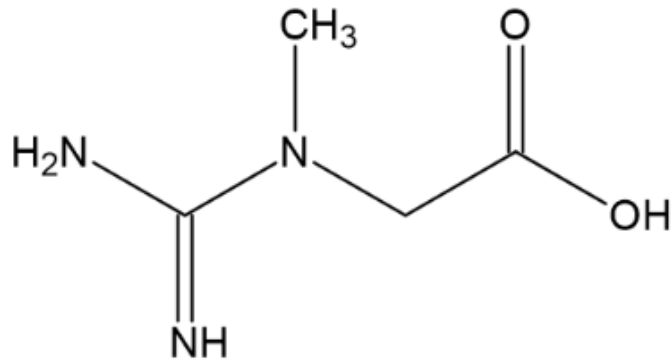
3.2 CREATINA

3.2.1 Estrutura Química e Origem

A creatina, também denominada ácido metil guanidinoacético e cuja fórmula química é $C_4H_9N_3O_2$, pode ser encontrada em alimentos de origem animal, como carne e peixe.

Sua estrutura molecular é ilustrada na Figura 1. Além disso, a molécula é sintetizada naturalmente no corpo humano por órgãos como o fígado, rins e pâncreas (CACCAMO; MAGAZÙ, 2022)

Figura 1 – Estrutura molecular da Creatina.



Fonte: elaborado pelos autores (2024).

Com base na estrutura da creatina, é possível identificar visualmente os grupos funcionais presentes que a caracterizam. Entre esses grupos, destacam-se uma amina terciária, um grupo ácido carboxílico na extremidade direita da molécula representada e, do lado esquerdo, uma amina primária e uma imina. (BRUICE, 2017)

Sua descoberta ocorreu no ano de 1832, quando o químico francês Michel Eugène Chevreul obteve êxito em extrair essa substância da carne bovina, sendo a primeira vez que isso foi realizado. Em virtude dessa conquista, Chevreul a denominou de creatina, originando-se do termo grego "Kreas", que significa carne. No entanto, somente em 1847 a presença da creatina foi oficialmente validada, quando o químico alemão Justus von Liebig conduziu um estudo observando a conexão da presença desta substância, com a atividade muscular. (CACCAMO; MAGAZÙ, 2022)

3.2.2 Suplemento Alimentar e Biomolécula

O consumo de creatina ocorre predominantemente através da ingestão de sua forma sólida, em pó, diluída em água. Portanto, hodiernamente a creatina é comercializada em diversas formas e dosagens, incluindo cápsulas de creatina monohidratada e suplementos em pó que combinam creatina e carboidratos em sua composição.

A creatina tem como principal função fornecer energia durante a contração muscular, uma vez que desempenha funções fisiológicas no metabolismo humano, tanto em sua forma intramuscular quanto em sua forma livre. (KRAEMER *et al.*, 2019) Nas células, a oxidação de carboidratos e gorduras produz ATP, adenosina trifosfato, uma molécula utilizada para fornecer a energia necessária para os diversos processos celulares. Durante os processos, ocorre a formação de ADP, adenosina difosfato, e AMP, adenosina monofosfato. O papel principal da creatina, na forma de fosfocreatina, é doar um grupo fosfato ao ADP, convertendo-o de volta em ATP, o qual pode ser reutilizado em um novo ciclo de reações, fornecendo mais energia para as células. Ela é dispersa em todo o corpo, de modo que cerca de 95% da creatina é encontrada nos músculos esqueléticos, e o restante é distribuído no cérebro e no coração. (CACCAMO; MAGAZÙ, 2022)

Por ser um componente crucial no sistema de fornecimento de energia, participando no resgate de ATP, a ingestão desta substância em forma de suplemento promove o aumento da concentração e das taxas de biossíntese de fosfocreatina no tecido muscular. Assim, a creatina atua como uma reserva imediata de energia disponível para a contração muscular, contribuindo para retardar os efeitos da fadiga durante a realização de exercícios intensos. (KRAEMER *et al.*, 2019) Além disso, a creatina pode ser particularmente vantajosa para melhorar o desempenho em modalidades esportivas que demandam múltiplas explosões de intensidade e/ou durante momentos decisivos de competições. (FORBES *et al.*, 2023)

A creatina também desempenha funções importantes relacionadas à alteração da composição corporal e ao auxílio no processo de hipertrofia muscular. Esse efeito é principalmente atribuído à atividade osmótica da creatina, que resulta na retenção de água nos tecidos. Aumentando a concentração dessa substância, o sarcoplasma é capaz de recrutar água livre para o interior das células musculares, causando notório ganho de volume muscular após o uso contínuo do suplemento. (KRAEMER *et al.*, 2019)

Dessa forma, a creatina é um recurso ergogênico eficaz para potencializar o treinamento de resistência e aprimorar o desempenho em atividades intermitentes de alta

intensidade e curta duração. Embora seus efeitos sobre o desempenho em atividades de resistência sejam menos compreendidos, a creatina apresenta a capacidade de prolongar o tempo até a exaustão durante atividades intensas, possivelmente devido ao incremento na capacidade de trabalho anaeróbico. (KRAEMER *et al.*, 2019)

Estando a creatina naturalmente presente nos músculos esqueléticos de vertebrados, é obtida de duas formas distintas. Aproximadamente 1 grama é sintetizada endogenamente a partir dos aminoácidos glicina, arginina e metionina, enquanto o restante é adquirido exogenamente por meio do consumo de alimentos como carnes vermelhas, aves, peixes e alguns vegetais. (LEITE, 2014)

Objetificando analisar o quantum de hipertrofia associado à suplementação de creatina, um estudo de (2019) intitulado “Physiological Basis for Creatine Supplementation in Skeletal Muscle and the Central Nervous System” foi conduzido em camundongos, dividindo-os em dois grupos distintos para obtenção dos resultados. O primeiro, o grupo controle, não recebeu suplementação de creatina, enquanto o outro grupo recebeu suplementação de creatina monohidratada. Após o período de análise, foi observado que o grupo suplementado apresentou um desenvolvimento superior de fibras musculares responsáveis pelo aumento de força e resistência muscular. (KRAEMER *et al.*, 2019)

3.2.3 Propriedades Físico-Químicas da Creatina

A princípio, a creatina, composto cuja massa molar equivalente a 131,13 g/mol, caracteriza-se como um ácido orgânico nitrogenado. Esta classificação é atribuída devido à presença de um grupo ácido carboxílico e grupos nitrogenados ligados por um carbono central. Em uma abordagem estrutural, a creatina é cristalizada em prismas monoclinicos rígidos e incolores, que armazenam uma molécula de água cristalizada por molécula de creatina, que sofrem desidratação por volta da temperatura de 125 °C e, ao ser submetida a temperaturas próximas de 290 °C, a creatina passa do estado sólido para o líquido, se decompondo durante o processo. (ZAGO; SILVA; BUENO, 2023) (SHIVER, 1929) (SAKATA; SHIRAIISHI; OTSUKA, 2004a) (DASH; MO; PYNE, 2002)

A creatina é comumente encontrada à venda em sua forma monohidratada, o que tem

motivado um considerável número de estudos sobre suas propriedades físico-químicas, biodisponibilidade e estabilidade. Esta forma de creatina é um pó altamente estável que não se converte em creatinina espontaneamente, mesmo quando armazenada por longos períodos, inclusive em temperaturas moderadamente elevadas. (KREIDER; JÄGER; PURPURA, 2022)

Em 2003, um estudo realizado por Degussa BioActives, centro de pesquisa de suplementos alimentares na Alemanha, demonstrou que ao longo de um período de 45 meses, a creatina na forma sólida não apresentou degradação significativa. (ANDRES *et al.*, 2017)

É notório que, ao armazenar a creatina em recipientes convencionais, com o passar do tempo, a mesma tende a formar aglomerados sólidos. Isso se dá devido à absorção de água presente na umidade do ar, principalmente nos ambientes em que a umidade é elevada. Essa propriedade higroscópica da creatina, pode resultar na formação dos aglomerados rígidos ao longo do tempo, que podem afetar sua manipulação. Portanto, ao trabalhar com a creatina, é importante considerar a umidade do ambiente para obtenção de resultados mais confiáveis. (SAKATA; SHIRAISHI; OTSUKA, 2004b)

Quando em solução aquosa a creatina não apresenta boa estabilidade devido ao processo de ciclização intramolecular, que forma a creatinina e acarreta na formação de uma molécula de água. Em termos gerais, o seu processo de degradação não depende da concentração, mas de outros fatores como pH e temperatura, de modo que, a taxa de reação aumenta proporcionalmente a temperatura e é inversamente proporcional ao pH. Essa conversão é conhecida como o equilíbrio creatina-creatinina e foi previamente investigada por Edgar e Shiver (1925) e por Cannan e Shore (1928). (SALOMONS; WYSS, 2007)

No acervo literário de estudos sobre creatina, foram identificados valores de pH que influenciam a conversão da creatina em creatinina. Em valores de pH maiores que 12,1, ocorre a desprotonação do grupamento ácido, dificultando o processo de ciclização intramolecular. Por outro lado, em valores de pH menores que 2,5, a protonação do grupo funcional amida favorece esse mesmo efeito. Diante dessas considerações, no âmbito alimentício, é recomendado que a creatina monohidratada seja consumida

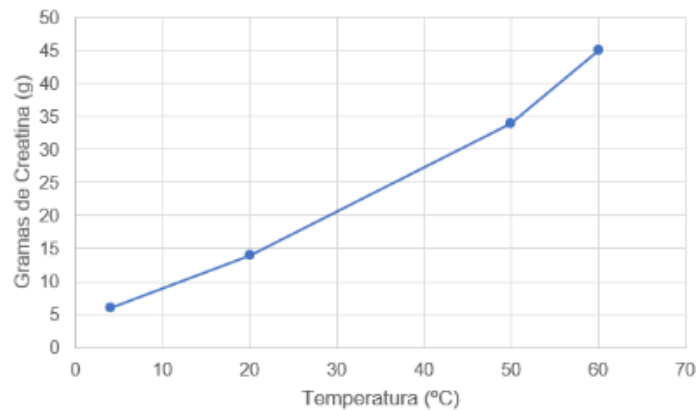
imediatamente após ser misturada em bebidas acidificadas ou refrigerada para retardar a conversão para creatinina. (KREIDER; JÄGER; PURPURA, 2022)

A determinação das propriedades da creatina foi substancialmente aprimorada pela observação de sua atuação no corpo humano. Nos estudos, a creatina era comumente observada em sua forma degradada na urina, a creatinina. Alguns dos primeiros estudos, conduzidos por Hahn e Fasold, datados de 1915, simulavam algumas condições metabólicas de interesse encontradas no organismo humano. Os resultados obtidos demonstraram que a desidratação era a reação que ocorria nesses parâmetros, e por consequência, também forneceram informações quanto a taxa de reação, e os efeitos na creatina após realizar a variação do pH e temperatura. (SHIVER, 1929)

Em um ensaio realizado por Hahn e Fasold em um ambiente com pH de 7,2, ligeiramente alcalino, e temperatura de 38 °C, observou-se que a desidratação correspondeu a 1,03% da massa total de creatina, após passar por um período de observação de 24 horas. A simulação foi fundamental para observar que a degradação da creatina não era apenas causada em meio ácido, mas também, em menor intensidade, em ambiente alcalino. (SHIVER, 1929)

A creatina possui propriedades físico-químicas distintas que são importantes para sua utilização. Sua solubilidade, por exemplo, varia de forma quase linear com o aumento da temperatura. Analogamente, um litro de água dissolve 6 g de creatina a 4 °C, 14 g de creatina a 20 °C, 34 g de creatina a 50 °C e 45 g de creatina a 60 °C. Além disso, em solução aquosa, a creatina apresenta característica levemente alcalina. Apesar de se tratar de apenas 4 pontos, tais dados estão dispostos no Figura 2, localizado a seguir. (SALOMONS; WYSS, 2007) (SHIVER, 1929)

Figura 2 – Gramas de creatina solúveis em 1 litro de água conforme aumento da temperatura.



Fonte: elaborado pelos autores (2024). Dados de SHIVER (1929).

Na literatura, são descritas diversas formas de aumentar a solubilidade da creatina. Estudos que empregaram a análise termogravimétrica aplicada à creatina sugerem que, além da temperatura, as características estruturais da creatina influenciam em sua solubilidade. O estudo realizado por Dash e colaboradores, publicado em 2001, evidenciou que a solubilidade, à 37 °C, da creatina monoidratada, da creatina anidra e da creatina após ciclização apresentavam valores de 27,97 mg/mL, 69,67 mg/mL e 79,46 mg/mL, respectivamente. Esses resultados indicam notória correlação entre a estrutura molecular da creatina e sua solubilidade, dado o fato que a creatina monohidratada possui cadeia aberta e uma molécula de água presente, em comparação à estrutura cíclica da creatinina. Em relação a outros solventes, a creatina apresenta ligeira solubilidade em etanol puro, com uma proporção de 1 parte em 9410 partes (g/L), e é insolúvel em éter etílico. (KREIDER; JÄGER; PURPURA, 2022) (DASH; MO; PYNE, 2002)

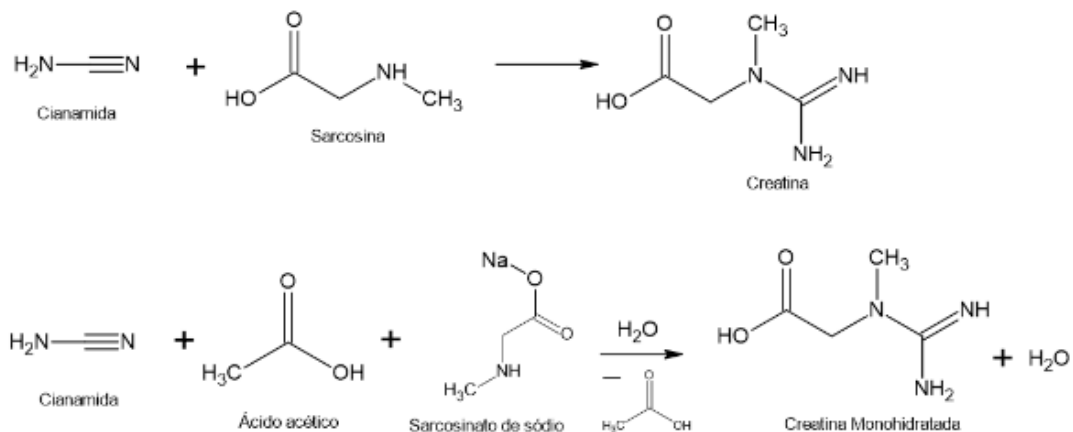
Outras de suas propriedades dizem respeito a entalpia da substância, estas bases foram determinadas experimentalmente por Shiver em 1929 que evidenciou, para creatina, calor de combustão de $\Delta H = 4240$ calorias por grama, e temperatura de degradação completa, para creatinina de 291 °C (SALOMONS; WYSS, 2007) (SHIVER, 1929)

3.2.4 Síntese e Produção da Creatina

Embora a literatura descreva diversos métodos para a síntese de creatina, que demonstram comprovação na obtenção de resultados finais com alta pureza da substância, apenas alguns desses métodos são viáveis para implementação em escala industrial, dada a demanda por produção em grande quantidade de creatina monohidratada. Esses métodos baseiam-se na guanilação, ou amidinação, da sarcosina e de seus sais. (SALOMONS; WYSS, 2007)

A síntese da creatina envolve a reação de adição nucleofílica entre a N-metilglicina (sarcosina) e a cianamida em meio aquoso, em condições controladas que incluem cloreto de sódio e hidróxido de amônio. Após o término da reação, os cristais de creatina formados são submetidos a um processo de purificação que consiste em dissolvê-los em água fervente. À medida que a solução esfria, ocorre a recristalização, com a formação de cristais em formato de agulhas, indicando um alto grau de pureza do produto final. A síntese da creatina, e também a de sua forma monohidratada é descrita conforme a Figura 3. (SMITH; TAN, 2006)

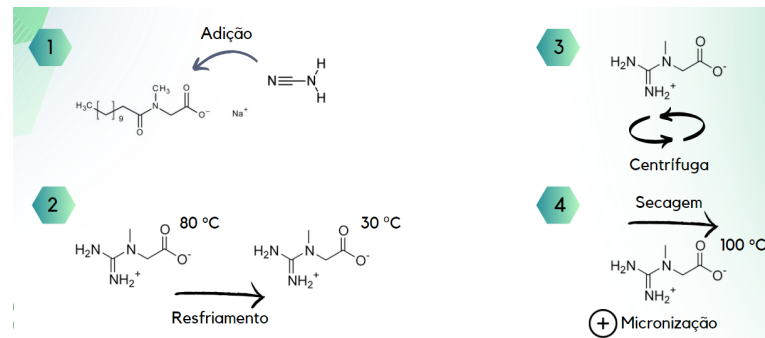
Figura 3 – Rotas de Síntese da Creatina.



Fonte: adaptado de PISCHEL; GARTNER (2007).

A produção industrial de creatina monohidratada pode ser sumarizada como um processo de quatro etapas, abrangendo as etapas de reação, cristalização, separação e secagem da substância filtrada. (SALOMONS; WYSS, 2007) Uma representação do processo pode ser realçada através do fluxograma da Figura 4 a seguir.

Figura 4 – Fluxograma da Síntese Industrial da Creatina



Fonte: adaptado de PISCHEL; GARTNER (2007).

O processo é realizado em um recipiente sob agitação constante. Na primeira etapa, que corresponde à reação, é adicionada uma solução aquosa de sarcosinato de sódio, cujo pH é ajustado com a adição do próprio ácido acético, que participa da reação como um catalisador, acelerando os mecanismos presentes na reação de adição nucleofílica. A mistura é então aquecida até $80\text{ }^\circ\text{C}$ e, sob agitação contínua, e adiciona-se cautelosamente a cianamida. Seguindo então para a etapa de cristalização, em que, após o tempo necessário para a reação ser concluída inicia-se o processo de cristalização, o recipiente é resfriado até cerca de $30\text{ }^\circ\text{C}$. Na terceira etapa, a separação, coletam-se os cristais de creatina monohidratada formados para que possam ser filtrados ou centrifugados, seguindo para a realização de uma lavagem com água morna para remover quaisquer resíduos da solução anterior. Por fim, a etapa de secagem do produto final é realizada a vácuo, em uma temperatura próxima a $100\text{ }^\circ\text{C}$ resultando em creatina com aproximadamente 75% de pureza, conforme ensaios realizados utilizando HPLC encontrados na literatura. (SALOMONS; WYSS, 2007)

Embora a creatina disponível no mercado seja predominantemente consumida em sua forma em pó, existem processos adicionais que seguem as etapas de cristalização e secagem. Para este suplemento, é comum o uso da micronização após as etapas finais de produção e a técnica mostra-se pertinente devido ao fracionamento das partículas de creatina permitir maior solubilidade, aumentando a superfície de contato, bem como contribuindo para melhor digestibilidade do suplemento. (HEZAVE *et al.*, 2010)

Esse processo consiste na redução dos cristais de creatina em partículas menores, envolvendo a redução do tamanho das partículas de creatina monohidratada por meio

do método de Expansão Rápida de Solução Supercrítica (RESS). Nesse método, a creatina monohidratada é dissolvida em um fluido supercrítico, normalmente dióxido de carbono (CO_2). Em seguida, essa solução é rapidamente despressurizada através de um bico apropriado. A despressurização rápida provoca a nucleação (etapa inicial da formação de cristais) da creatina monohidratada, resultando em partículas altamente dispersas e diminutas. (HEZAVE *et al.*, 2010)

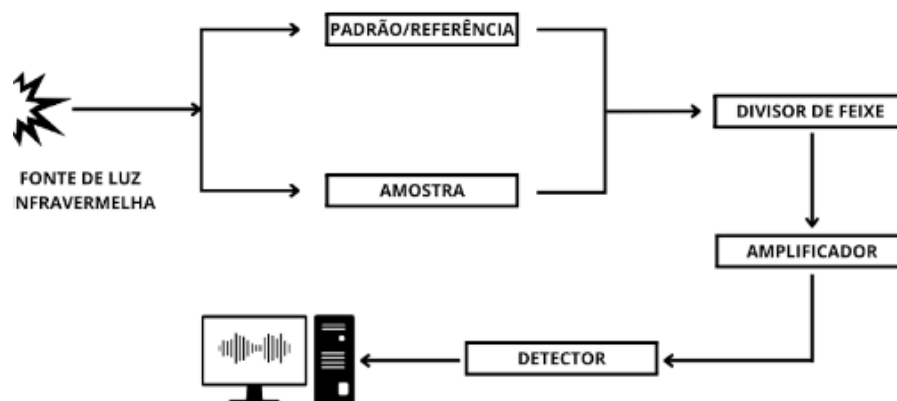
3.3 TÉCNICAS ANALÍTICAS

3.3.1 Métodos Espectroscópicos

3.3.1.1 Infravermelho

Sob a perspectiva geral, a espectroscopia de infravermelho baseia-se na emissão de fótons que são direcionados a um prisma por uma lâmpada policromática. A luz resultante, agora monocromática, atravessa a amostra e é capturada por um detector sensível à luz. Apesar de eficazes, os dispositivos mais simples são considerados obsoletos devido ao tempo prolongado necessário para amostragem, à baixa relação sinal-ruído e ao seu tamanho volumoso (OZAKI *et al.*, 2020). A seguir, a Figura 5 evidencia o funcionamento de um espectrofotômetro de infravermelho.

Figura 5 – Estrutura de um espectrofotômetro IR



Fonte: elaborado pelos autores (2024).

O espectrofotômetro de infravermelho mais simples é formado por componentes essenciais para a realização das análises. Inicialmente, há a fonte de luz infravermelha, que geralmente é uma fonte de Nernst, um filamento com óxidos de zircônio, cério e tório.

O feixe inicial de luz infravermelha atravessa um monocromador destinado à seleção do comprimento de onda do feixe, geralmente feito de cloreto de sódio ou brometo de potássio e é então dividido em dois feixes: um atravessa a amostra e o outro passa pelo padrão de referência. O espectro é obtido pela diferença na absorbância ou transmitância entre as cubetas, que não podem ser de vidro ou quartzo, pois ambos absorvem intensamente no infravermelho. Esses feixes são posteriormente reunidos por um sistema de espelhos e direcionados a um divisor de feixes. A luz combinada é então conduzida ao amplificador e, em seguida, ao detector. Os sinais elétricos produzidos pela interação da luz com o detector são processados por um computador, transformando-se inicialmente em interferogramas e, depois, em espectros detalhados. (VOGEL; MENDHAM, 2000)

A técnica fundamenta-se na análise das vibrações moleculares dos grupos funcionais presentes nas moléculas. Essas vibrações são provenientes da interação da radiação eletromagnética com as ligações químicas nas moléculas, provocando mudanças na distribuição de carga e no dipolo molecular. Quando a radiação eletromagnética incide sobre uma molécula, as ligações químicas absorvem energia, levando a variações específicas nas vibrações moleculares que podem ser detectadas e analisadas. Esse processo permite identificar e caracterizar diferentes compostos com base em seus padrões vibracionais únicos (OZAKI *et al.*, 2020). Vale ressaltar que o infravermelho próximo é, de todas as regiões do infravermelho, aquela que produz maior aquecimento ao local que está sendo irradiado. (GRIFFITHS, 1983)

A maioria dos compostos com ligações covalentes absorve radiação infravermelha, cuja faixa está situada entre a luz visível e a região das micro-ondas no espectro eletromagnético. O infravermelho é geralmente dividido em três regiões principais: o infravermelho próximo (NIR), com comprimentos de onda entre 0,8 e 3 μm ; o infravermelho médio (MIR), abrangendo comprimentos de onda entre 3,0 e 50,0 μm ; e o infravermelho distante (FIR), que cobre uma faixa de 50,0 a 1000,0 μm . (OTHMAN, 2022)

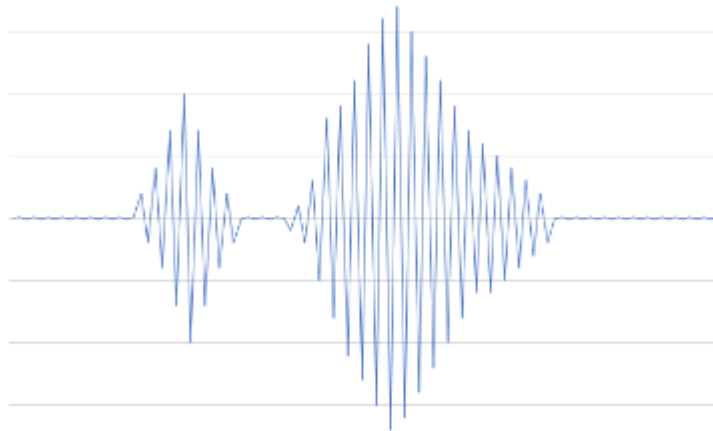
No infravermelho, os tipos de vibração que ocorrem incluem translação, rotação e vibrações moleculares. A translação representa o movimento de translação das moléculas

em direções perpendiculares (x, y, z). A rotação refere-se ao movimento de rotação das moléculas em torno dos eixos x, y e z. (GRIFFITHS, 1983)

As vibrações moleculares são as mais relevantes no infravermelho, envolvendo os átomos em uma molécula vibrando em relação às suas posições de equilíbrio. Essas vibrações podem ser classificadas em diferentes tipos: vibrações de ligação, que são o movimento de aproximação e afastamento dos átomos ao longo da ligação; vibrações de deformação angular, que envolvem a alteração nos ângulos entre as ligações; vibrações de torção, que se referem à rotação dos átomos em torno de uma ligação; e vibrações de flexão, que são movimentos de dobragem da molécula. (GRIFFITHS, 1983)

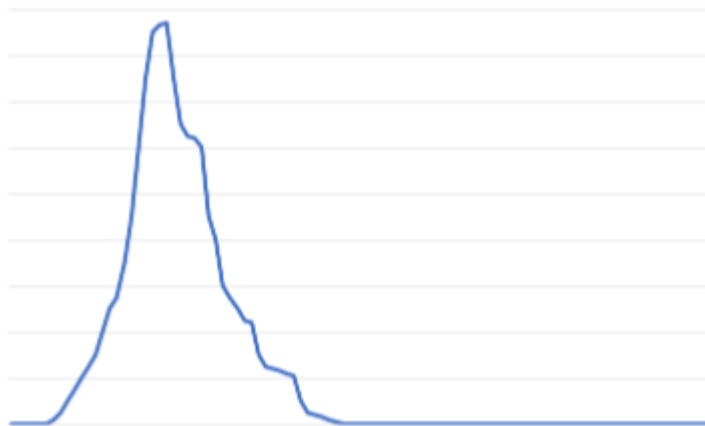
Atualmente, a técnica mais amplamente utilizada na espectroscopia por infravermelho é justamente a FTIR (Transformada de Fourier por Infravermelho) e tais espectrofotômetros são preferidos por sua rapidez, melhor relação sinal-ruído e calibração precisa do número de onda (OTHMAN, 2022), que assegura a exatidão dos resultados (OZAKI *et al.*, 2020). A técnica se assemelha à convencional, onde a radiação infravermelha é direcionada através da amostra a ser analisada, assim, uma fração dessa radiação é absorvida pela amostra, enquanto a parte restante é transmitida (OTHMAN, 2022), permitindo identificar grupos funcionais específicos presentes em moléculas orgânicas e caracterizar a composição química de amostras biológicas (ABIDI, 2021). Entretanto, a aplicação da transformada de Fourier em espectrofotômetros modernos permite a análise simultânea de múltiplos comprimentos de onda. Este método utiliza interferômetros para dividir e refletir a luz policromática, criando interferências que geram interferogramas, posteriormente convertidos em espectros legíveis (OZAKI *et al.*, 2020). A Figura 6 exemplifica um modelo de interferograma gerado enquanto a Figura 7 exemplifica um espectro ideal obtido.

Figura 6 – Interferograma representativo



Fonte: elaborado pelos autores (2024).

Figura 7 – Espectro representativo



Fonte: elaborado pelos autores (2024).

Os espectrofotômetros FTIR oferecem vantagens em comparação com as técnicas tradicionais de infravermelho. Esses instrumentos são mais precisos e sensíveis, possibilitando a medição simultânea de todas as frequências dos grupos funcionais, aumentando a eficiência e a quantidade de informações obtidas em cada experimento, ao contrário das técnicas convencionais de IR, que estimavam cada grupo funcional individualmente (OTHMAN, 2022). Além disso, os espectrofotômetros FTIR permitem tempos de varredura extremamente rápidos, possibilitando a coleta de dados em frações de segundo. Além disso, esses instrumentos possuem uma relação sinal-ruído superior, o que resulta em medições mais precisas e confiáveis. (OZAKI *et al.*, 2020)

Contudo, é importante ressaltar que, apesar da aplicabilidade e viabilidade da espectrofotometria infravermelho para uma ampla gama de compostos orgânicos, a técnica apresenta limitações na identificação de certas amostras. Notadamente, há desafios na identificação de proteínas, principalmente devido a posição de algumas bandas espectrais de estruturas presentes em proteínas peptídicas secundárias (FABIAN; MÄNTELE, 2006). Além disso, ao analisar células inteiras, conjuntos de células ou tecidos específicos, é evidenciada a sobreposição de bandas espectrais provenientes de diversas proteínas, lipídios, açúcares, ácidos nucleicos e outros constituintes. Essa sobreposição gera um espectro infravermelho complexo e desordenado, dificultando a análise precisa dessas amostras. (LÓPEZ-LORENTE; MIZAIKOFF, 2016)

3.3.1.1.1 Avanços Tecnológicos

No âmbito dos avanços tecnológicos, o uso de diversas tecnologias semicondutoras, incluindo nanomateriais, possibilitou que os detectores conseguissem identificar a faixa externa do infravermelho próximo com elevada eficiência. Os fotodetectores baseados em nanopartículas oferecem alto desempenho quando comparados a materiais volumosos e filmes finos. Nos últimos anos, houve avanços significativos na pesquisa de fotodetectores de infravermelho próximo, resultando em uma gama de aplicações, como a detecção de movimento por meio de sensores infravermelhos pirroelétricos, além de aplicações em vigilância e detecção de chamas, e avaliação de gases. (GAO *et al.*, 2023)

Em 2010, um trabalho de Antoni Rogalski, afiliado ao Instituto de Física Aplicada, em Warsaw, na Polônia, destacou avanços nos detectores de infravermelho, como os detectores de fótons e detectores térmicos, os semicondutores de liga ternárias de HgCdTe, redes cristalinas denominadas superredes do tipo II, bolômetros térmicos não resfriados e detectores térmicos micromecânicos inovadores. Enfatiza-se que, apesar da competição de outras tecnologias, o semicondutor de liga HgCdTe ainda é uma opção robusta para aplicações de alta performance, especialmente em contextos que exigem resposta rápida e capacidades multiespectrais. Dessa forma, é notório o esforço do ramo para aprimorar cada vez mais os componentes do aparelho de infravermelho, testando abordagens diferentes para a execução das leituras. (ROGALSKI, 2011)

3.3.1.1.2 *Infravermelho Próximo e Miniaturização*

A mudança da espectroscopia infravermelha tradicional para a espectroscopia micro-NIR foi impulsionada principalmente pelo surgimento de espectrômetros portáteis, oferecendo novas possibilidades de aplicação devido à miniaturização (OZAKI *et al.*, 2020). O uso da espectroscopia NIR se justifica por uma série de fatores, entre eles estão a sua alta sensibilidade, demonstrando eficiência na detecção e quantificação de compostos orgânicos, com aplicabilidade para análise de amostras contendo substâncias orgânicas, com concentrações vestigiais, de até 0,1% m/m (SHAW *et al.*, 1996), a aplicabilidade em diversos campos, incluindo bioaplicações, devido à sua flexibilidade em diversos tipos de amostras, destacando sua capacidade de examinar amostras úmidas, a dispensa de reagentes e possibilidade de automação na área de análises da química clínica, o potencial das aplicações portáteis em farmácias para medição de colesterol e triglicerídeos no sangue. Também conta com vantagens no meio da agricultura, sendo capaz de detectar parâmetros e impurezas em rações, silagens e forragens. (OZAKI *et al.*, 2020)

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) é particularmente delimitada à análise de compostos que contêm grupos O-H, N-H e C-H em sua estrutura molecular. Esses grupos funcionais tornam os compostos detectáveis na região do infravermelho próximo, sendo possível detectar a presença de água em amostras, haja vista a presença de ligações oxigênio-hidrogênio. (OZAKI *et al.*, 2020)

Um espectrofotômetro de infravermelho próximo (NIR) é composto por diversos componentes-chave que desempenham papéis críticos na análise de amostras. A fonte de luz, geralmente lâmpadas de tungstênio-halogênio ou diodos emissores de luz (LED), emite a radiação infravermelha necessária para a análise. Um sistema de divisão de feixe converte a luz multicolorida em luz monocromática, facilitando a análise por comprimentos de onda específicos (ZAREEF *et al.*, 2020). Cubetas fabricadas em quartzo são indicadas para esse tipo de análise, devido à sua transparência nessa faixa de comprimento de onda (GRIFFITHS, 1983). O detector óptico captura a luz refletida ou transmitida pela amostra, enquanto a câmara de amostra é o local onde as amostras são colocadas para análise, podendo ser de quartzo para amostras líquidas ou contar

com acessórios de reflexão difusa para amostras sólidas. Por fim, um sistema de processamento de dados é empregado para processar e analisar os dados espectrais obtidos durante a análise. A integração desses componentes permite a obtenção de resultados precisos e confiáveis, tornando o espectrômetro NIR uma ferramenta valiosa para a análise de amostras alimentares e diversas outras aplicações científicas. (ZAREEF *et al.*, 2020)

A radiação do infravermelho próximo (NIR) tem uma variedade de aplicações em diversos setores. Na inspeção de alimentos, equipamentos NIR compactos e portáteis proporcionam uma análise não invasiva, contribuindo para a segurança dos alimentos e para o monitoramento da qualidade (GAO *et al.*, 2023). Na indústria farmacêutica, a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) é empregada para otimizar os processos de síntese e purificação de Ingredientes Farmacêuticos Ativos (APIs) e para monitorar as fermentações em biotecnologia, possibilitando a análise instantânea de reações de síntese e o rastreamento de múltiplos componentes em processos biológicos. Além disso, a tecnologia NIR demonstra ser altamente eficaz na análise de misturas complexas, permitindo o acompanhamento simultâneo de uma ampla gama de nutrientes e subprodutos. Essa aplicação abrangente da tecnologia NIR abarca diversos segmentos da indústria farmacêutica e biotecnológica, englobando desde a verificação de matérias-primas até o controle de qualidade de compostos medicamentosos. (CIURCZAK; IGNE, 2014)

Frente a outros métodos analíticos, o espectrofotômetro micro-NIR proporciona mobilidade, elevada eficácia e rapidez, análise não-destrutiva e técnicas de calibração avançadas, promovendo maior versatilidade e eficácia na avaliação de alimentos em contraste com abordagens convencionais (BEC; GRABSKA; HUCK, 2022). A portabilidade do aparelho permite a realização de medições diretas em locais de interesse, como ambientes externos ou instalações industriais, sem a exigência de preparo prévio das amostras, desde que os modelos quimiométricos adequados tenham sido previamente desenvolvidos. A utilização de técnicas de análise multivariada de dados é essencial para a interpretação eficaz dos dados obtidos por meio da espectroscopia NIR. (RIU *et al.*, 2022)

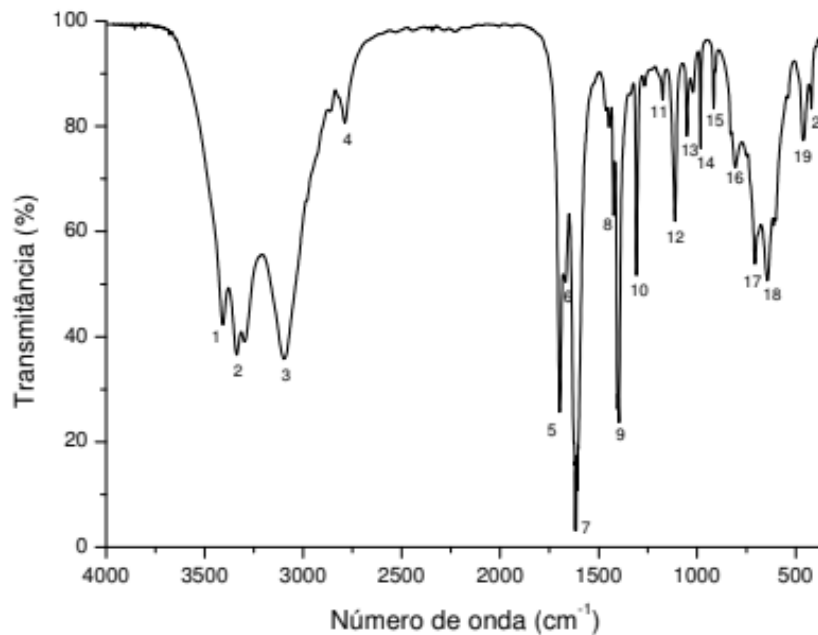
A aplicação da espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) revela vantagens notáveis em análises químicas tanto qualitativas quanto quantitativas. O NIR portátil, além de garantir uma análise rápida e altamente sensível para compostos orgânicos, oferece a flexibilidade de ser utilizado em qualquer local. Essa mobilidade abre um leque de possibilidades, desde a análise de substâncias apreendidas em aeroportos até o controle de qualidade em todas as etapas dos processos industriais, sem interrupção da produção. Além disso, possibilita investigações de fraudes em produtos comerciais sem a necessidade de enviar amostras para um laboratório e avaliação de teores de princípios ativos em farmácias de manipulação, proporcionando uma abordagem ágil e eficiente para identificação de irregularidades. (BEĆ; GRABSKA; HUCK, 2022)

3.3.1.1.3 *Espectroscopia de Infravermelho aplicada à Análise de Creatina*

Certos grupos característicos das moléculas orgânicas responsáveis pelas bandas no espectro de absorção no infravermelho estão presentes no espectro da molécula de creatina. A absorção é mensurada através de variações no modo normal de vibração da molécula, uma vez que ao ser atingida pela radiação infravermelha, há diferentes comportamentos para os grupos presentes. Tais comportamentos podem ser vibrações de estiramento e/ou dobramento. (SAKANE *et al.*, 2011)

Os dados experimentais de um estudo investigativo sobre a creatina em tecido cerebral de roedores identificaram bandas características da presença de creatina. Essas bandas foram detectadas por meio de análise de infravermelho, aproximadamente nos números de onda 2.800, 1.621, 1.398 e 1.304 cm^{-1} (DULINSKA *et al.*, 2012). Correspondendo, respectivamente, aos picos 4,7,9 e 10 da Figura 8. As posições de tais grupos no espectro não são somente causadas, mas também influenciadas pela absorção dos grupos amina terciária, ácido carboxílico, amina primária, imina, ligações carbono-carbono e carbono-hidrogênio como um todo.

Figura 8 – Espectro Infravermelho da Creatina



Fonte: SAKANE *et al.* (2011).

Em testes com camundongos submetidos à suplementação e atividades físicas intensas, foi atestada a possibilidade de detecção da creatina intramuscular através do método FT-IR. Além disso, a sensibilidade do método permite a quantificação da variação da creatina em diferentes condições experimentais, demonstrada pela comparação do teor de creatina intramuscular em distintas dosagens administradas. (JERÔNIMO *et al.*, 2012)

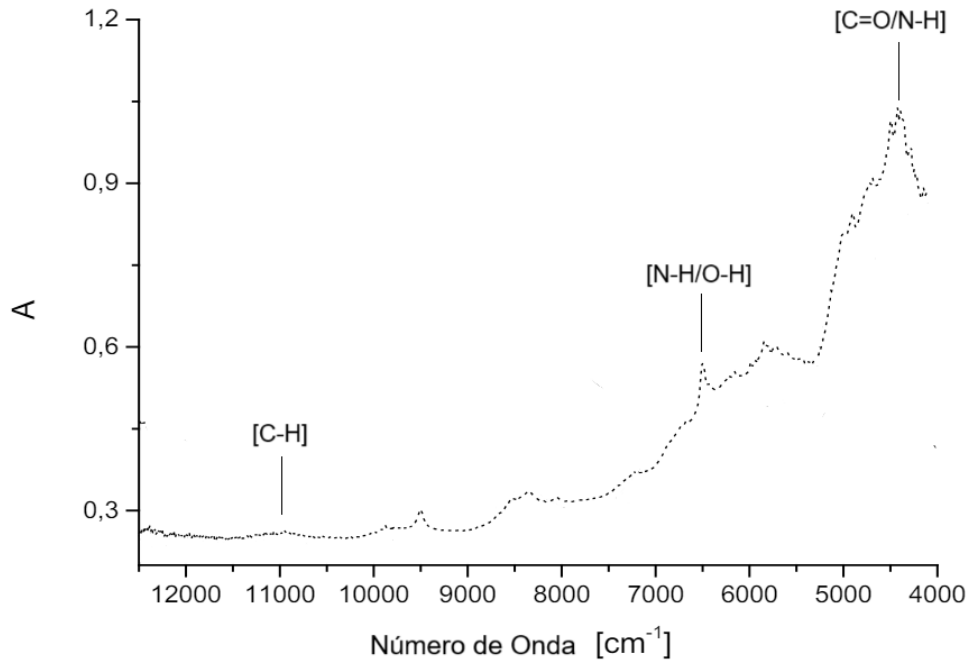
No campo da bioquímica, o artigo datado de 1996 intitulado "Quantitative analysis of metabolites in urine using a highly precise, compact near-infrared Raman spectrometer" aborda a análise quantitativa da creatina na urina utilizando um espectrômetro Raman-NIR, um sistema de instrumentos analíticos avançados. Embora o artigo seja antigo, este estudo destaca a creatina como um dos principais metabólitos examinados, juntamente com glicose, acetona e ureia, revelando a importância de monitorar esses compostos em contextos clínicos e de pesquisa. A concentração de creatina na urina foi determinada pelas intensidades das bandas em 692 cm^{-1} , mostrando uma excelente correlação com a concentração real da substância, evidenciada por um coeficiente de correlação (R^2) de 0,998. Além disso, o estudo revelou um limite de detecção

de 1,5 mg/mL para a creatina, demonstrando a sensibilidade e precisão do método. Esses resultados ressaltam a eficácia do sistema proposto, tornando-o uma ferramenta promissora para análises não invasivas e precisas de biomarcadores urinários, com potencial aplicação em diagnósticos médicos e monitoramento de condições metabólicas. (DOU *et al.*, 1996)

Assim, atesta-se a viabilidade da aplicação da espectroscopia de infravermelho na identificação de creatina em amostras em pó, uma vez que é possível detectar a presença dessa substância em diferentes tipos de amostras e que seus grupos característicos fornecem evidente resposta analítica na região do infravermelho. A análise de creatina foi comprovada tanto em urina quanto em tecido muscular, permitindo concluir, por indução, que as amostras em pó não apresentarão limitações significativas para essa técnica analítica.

Outro fator importante que gera dúvidas e deve ser esclarecido é o calor gerado pelo infravermelho próximo (NIR), que é insuficiente para degradar a creatina durante a análise, preservando a integridade da amostra. Conforme demonstrado no artigo "Application of NIR Spectroscopy for Sport Supplements Identification" de Krzysztof Wójcicki, a creatina é claramente detectável utilizando a espectroscopia NIR. Esta técnica proporciona um espectro com pontos característicos, resultantes da presença de grupos funcionais como O-H, N-H e C-H na molécula e esses grupos funcionais estão presentes e permitem a identificação precisa da molécula de creatina. A capacidade do NIR de detectar esses sinais sem causar decomposição torna-o uma ferramenta valiosa para a análise de suplementos esportivos e outras aplicações onde a preservação da amostra é crucial. (WÓJCICKI, 2017) A Figura 9, representa o espectro NIR característico da creatina.

Figura 9 – Espectro NIR da Creatina



Fonte: adaptado de WÓJCICK (2018).

3.3.1.2 Raman

Quando uma fonte de radiação de luz monocromática incide sobre uma amostra isenta de contaminações, opticamente perfeita e transparente, a maior parte da radiação é transmitida pelo analito. No entanto, uma fração da radiação sofre o efeito de espalhamento, revelando que a frequência da radiação espalhada não advém da fonte de luz monocromática que incide inicialmente, mas também é constituída outras frequências formadas durante o processo. (HOFFMANN, 2023)

Em sistemas moleculares, essas novas frequências estão associadas aos níveis vibracionais e rotacionais dos estados eletrônicos. A radiação espalhada geralmente possui características de polarização diferentes da radiação incidente, com o espalhamento ocorrendo em todas as direções. Tanto a intensidade quanto a polarização da radiação espalhada dependem da direção de observação. Quando o espalhamento é acompanhado por uma mudança na frequência, o fenômeno é conhecido como espalhamento Raman. Em um espectro de espalhamento, estas novas frequências são apresentadas nas formas de linhas, ou bandas de Raman, de modo que o conjunto destas linhas constitui um espectro Raman. (HOFFMANN, 2023)

Na forma mais comum de espectroscopia Raman, uma substância é irradiada por um laser. A intensidade da radiação resultante de menor comprimento de onda é então plotada contra o seu comprimento de onda. Neste caso, comprimento de onda significa a diferença em relação ao comprimento de onda do laser. Em vez do comprimento de onda, muitas vezes é usado o seu número de onda recíproco, que é uma maneira inversa de medição do comprimento de onda. Trata-se de técnica não destrutiva e de alta sensibilidade. Ainda que comparada a outras técnicas espectroscópicas, a espectroscopia Raman destaca-se por sua capacidade de identificar diferentes tipos de analitos. (PETERSEN; YU; LU, 2021)

Entretanto, é importante destacar que, embora a espectroscopia Raman possua suas qualidades, a técnica apresenta algumas limitações. Por se tratar de um método que utiliza análises no nível eletrônico vibracional, alguns espectros podem estar sujeitos a obstáculos relacionados à intensidade do sinal. Principalmente em casos de amostras cristalinas ou densas, em que a presença de um ruído de fundo significativo pode dificultar a detecção e a análise precisa do sinal Raman desejado. Nessas situações, o sinal pode apresentar baixa intensidade, exigindo tempos de detecção mais longos para obter dados significativos, especialmente em amostras com seções transversais de espalhamento Raman menores. (BERWEGER; RASCHKE, 2010) A espectroscopia Raman também encontra desafios ao analisar materiais com fluorescência devido à interferência causada pelo sinal de fluorescência, levando à curvatura da linha de base e à redução da relação sinal-ruído. (CORUJO *et al.*, 2022)

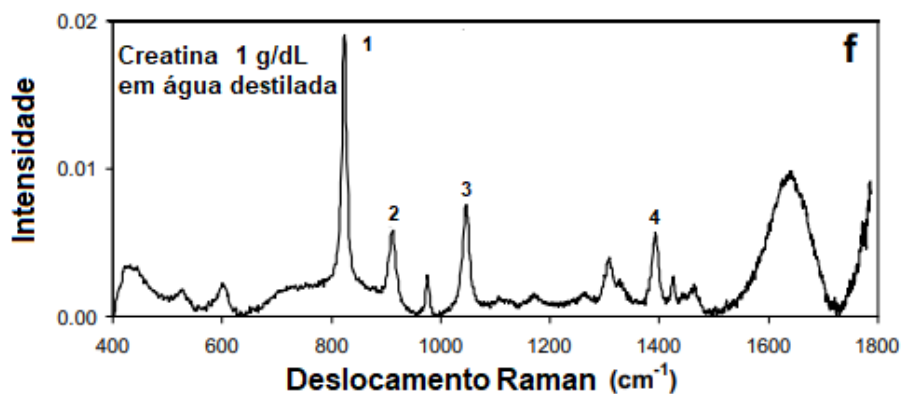
3.3.1.2.1 Aplicação na Análise de Creatina

A viabilidade da aplicação da espectroscopia Raman na identificação e quantificação de amostras contendo creatina é evidenciada na literatura científica. Estudos como o artigo intitulado "Detecting Creatine Excreted in the Urine of Swimming Athletes by Means of Raman Spectroscopy," conduzido por Moreira e colaboradores em 2019, demonstram a eficácia deste método analítico. Neste estudo, a espectroscopia Raman foi empregada para a análise de creatina excretada em amostras de urina coletadas de praticantes de natação. (MOREIRA *et al.*, 2020)

Os grupos do estudo foram subdivididos em dois: o grupo de controle, composto por

14 praticantes de natação (6 homens e 8 mulheres), e o grupo de análise, formado por 5 nadadores profissionais (3 homens e 2 mulheres). As amostras de urina foram coletadas em duas condições distintas: uma antes do circuito e outra após um treino de natação de 150 minutos. A espectroscopia Raman foi utilizada para identificar a creatina excretada na urina dos nadadores. A confirmação da presença de creatina foi obtida pela comparação dos picos específicos da creatina pura com os encontrados nas amostras de urina dos atletas. Durante as análises, foram identificados os picos característicos da creatina nas frequências de 829, 915, 1049 e 1397 cm^{-1} . Equivalentes, respectivamente, aos picos 1, 2, 3 e 4 da Figura 10. (MOREIRA *et al.*, 2020)

Figura 10 – Espectro Raman da Creatina



Fonte: adaptado de MOREIRA *et al.* (2020).

A quantificação e análise dos espectros foram realizadas utilizando ferramentas de quimiometria, especificamente através de métodos envolvendo a análise de componentes principais (PCA), também abordado nesta monografia. Os resultados da quantificação dos níveis de creatina na urina dos atletas variaram de 0,060 g/dL a 0,72 g/dL. É importante destacar que, entre os nadadores submetidos aos testes, dois relataram o consumo de suplementos ricos em creatina. Esse fato foi corroborado pela espectroscopia Raman, que revelou picos mais acentuados e semelhantes aos da creatina pura nas amostras de urina desses atletas. (MOREIRA *et al.*, 2020)

A espectroscopia Raman, especialmente quando associada a técnicas quimiométricas,

revela-se como um método analítico relevante e eficaz para a análise e quantificação de creatina. O estudo apresentado demonstrou sucesso na identificação deste composto e na detecção de diversas concentrações. No entanto, apesar de sua eficácia, a espectroscopia Raman enfrenta algumas limitações e desafios em sua aplicação.

Uma das principais limitações é a possível sobreposição de bandas espectrais presentes na urina, o que pode levar a interpretações incorretas dos dados. Além disso, há a necessidade de pré-processamento para a remoção dos ruídos de fundo intrínsecos ao espectro Raman e para eliminar o espalhamento causado por outras impurezas presentes na urina. Essas questões indicam que, embora promissora, a aplicação da espectroscopia Raman requer cuidados adicionais para garantir a precisão e a confiabilidade dos resultados. (MOREIRA *et al.*, 2020)

3.3.1.3 Espectroscopia Ultravioleta-Visível

A espectroscopia UV-VIS (ultravioleta e visível) é uma técnica analítica não-destrutiva, aplicável a uma ampla variedade de amostras. No campo medicinal, é utilizada para analisar enzimas e quantificar ácidos nucleicos, demonstrando sua alta sensibilidade e precisão (SINGHAL *et al.*, 2024). A técnica baseia-se na análise da absorção de radiação nas regiões do ultravioleta e do visível do espectro eletromagnético por moléculas ou íons presentes em uma amostra. Quando uma molécula ou íon absorve radiação UV-VIS, ocorre uma transição eletrônica, promovendo um elétron de um estado de menor energia, ou estado fundamental, para um estado de maior energia. A energia da radiação absorvida corresponde à diferença de energia entre esses dois estados eletrônicos. Um espectro de absorção é obtido medindo-se a quantidade de luz absorvida pela amostra em diferentes comprimentos de onda. As regiões de maior absorção no espectro indicam os comprimentos de onda específicos nos quais ocorrem as transições eletrônicas, fornecendo informações quantitativas e qualitativas da amostra (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2007).

Contudo, para que se possa obter uma análise precisa, algumas limitações do método devem ser mitigadas de modo que seja possível tornar a etapa de análise menos laboriosa. Entre estas limitações, destaca-se a necessidade de considerar o efeito

do solvente no espectro. As interações entre solvente e soluto influenciam a forma, a posição e a intensidade dos picos de absorção máxima, alterando a interpretação dos dados espectroscópicos (PRABHUMIRASHI; KUNTE, 1986). Outra dificuldade reside na distinção entre compostos com espectros de absorção semelhantes, como a creatina e a creatinina, que está diretamente associada a dificuldade do método em analisar e fornecer espectros claros para misturas de substâncias (PICOLLO; ACETO; VITORINO, 2019). Além disso, a alta sensibilidade do método pode ser um desafio, pois impurezas presentes na amostra podem afetar a precisão dos resultados. (FEIZI *et al.*, 2022)

3.3.1.3.1 *Aplicação na Análise de Creatina*

As aplicações da espectroscopia UV-Vis na análise de creatina estão frequentemente associadas à combinação com outros métodos analíticos para fornecer uma caracterização mais detalhada das amostras. No estudo intitulado "Control of the Quality of Creatine Sports Supplements Using a Validated LC Method with UV Detection," realizado por Feizi e colaboradores em 2022, foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) combinada com espectroscopia UV-Vis para determinar o teor de creatina em suplementos esportivos. (FEIZI *et al.*, 2022)

Para realizar essa análise, foi utilizado um padrão de creatina monohidratada com 98% de pureza. Foram analisadas 36 marcas distintas de creatina monohidratada, permitindo uma avaliação abrangente da qualidade dos suplementos disponíveis no mercado. A separação foi realizada em uma coluna analítica C18, utilizando água acidificada (pH 3) como fase móvel. A quantificação da creatina foi feita por meio de um software, utilizando a área do pico, já que o pico de creatina estava bem separado da linha de base e não apresentava sobreposição. (FEIZI *et al.*, 2022)

A absorbância da solução de creatina foi analisada na faixa de comprimento de onda de 190 a 600 nm. Com base na máxima resposta instrumental, o comprimento de onda de 210 nm foi selecionado para registrar a absorbância. Esse método de quantificação mostrou-se eficiente para determinar o teor de creatina nas amostras. Das 36 amostras analisadas, 8 apresentaram menos de 50% de creatina em sua composição, 7 apre-

sentaram entre 50% e 80%, e 21 apresentaram mais de 80% de creatina. (FEIZI *et al.*, 2022)

Assim, a espectroscopia UV-Vis se destaca como uma técnica analítica valiosa devido à sua alta sensibilidade e precisão na análise de amostras variadas, incluindo enzimas e ácidos nucleicos. No contexto da análise de creatina, sua aplicação combinada com outros métodos, como a cromatografia líquida de alta eficiência, permite uma caracterização mais detalhada e precisa das amostras. O estudo de Feizi e colaboradores (2022) exemplifica a eficácia dessa combinação ao avaliar a qualidade de suplementos de creatina no mercado. No entanto, é importante considerar e mitigar as limitações inerentes ao método UV-Vis, como os efeitos do solvente e a distinção entre compostos com espectros de absorção semelhantes. Essas precauções são essenciais para garantir a precisão e a confiabilidade dos resultados obtidos. Contudo, é válido ressaltar que o método associado demonstra capacidade de contornar estas limitações, dada a capacidade de separação do método cromatográfico. (FEIZI *et al.*, 2022)

3.3.2 Métodos Cromatográficos

A cromatografia é uma técnica analítica de alta resolução, capaz de separar e analisar componentes até mesmo de misturas complexas, permitindo a determinação de múltiplas substâncias em apenas uma análise. Trata-se de um método de separação baseado na distribuição dos componentes de uma mistura entre duas fases: uma móvel e outra estacionária. Os componentes são transportados pela fase móvel, que se desloca em contato com, e através, da fase estacionária. A combinação dos efeitos de transporte pela fase móvel e retenção pela fase estacionária resulta na separação dos componentes devido às suas interações intermoleculares com ambas as fases. Em termos gerais, a cromatografia envolve três componentes principais, uma coluna cromatográfica, a fase móvel, que é o fluido responsável por transportar os analitos através da coluna do sistema cromatográfico, e a fase estacionária, que retém os analitos com base nas suas interações intermoleculares. (POLO, 2015)

Entretanto, apesar de sua ampla aplicabilidade, a técnica, em alguns casos, pode

ser considerada custosa devido ao consumo de solventes. É importante ressaltar a baixa sensibilidade na identificação de alguns compostos, especialmente aqueles que são adsorvidos de forma irreversível. Além disso, embora seja um método bem estabelecido para separação e análise, não há um sistema de detecção universal disponível. Portanto, ajustes específicos de solvente e preparo de amostras são necessários para cada tipo de análise. (ALI, 2022)

3.3.2.1 Cromatografia Líquida

3.3.2.1.1 Aplicação na Análise de Creatina

A principal técnica cromatográfica empregada para a análise de creatina consiste na cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectrômetro de massas (CLAE-EM), um processo que combina a capacidade de separação de compostos, com a determinação da massa provida pelo espectrômetro. (BEEKS, 2016)

A amostra com creatina é carregada através de uma coluna de cromatografia líquida preenchida com material adsorvente. Os componentes químicos presentes na amostra reagem de maneira diferente com o material adsorvente. O tempo que cada composto leva para passar pela coluna varia com base nessa interação. Dessa forma, cada composto químico passa pela coluna em diferentes velocidades, permitindo a separação e identificação de cada substância com base em sua interação com o material adsorvente. Combinada ao espectrômetro de massas, essa técnica é capaz de detectar a presença e a concentração dos compostos presentes na amostra de creatina. (NOOLEN *et al.*, 2013)

A análise da creatina em material biológico, como plasma e urina, utilizando métodos cromatográficos acoplados, evidencia-se possível na separação de três compostos: guanidinoacetato, creatina e creatinina. Esses compostos são injetados em uma coluna cromatográfica com fase estacionária C18, onde a separação ocorre em condições controladas de temperatura e em fluxo isocrático. Em seguida, utiliza-se um espectrômetro com analisador de triplo quadrupolo, equipado com uma fonte de ionização por electrospray (IES). (NOOLEN *et al.*, 2013)

A quantificação da creatina é determinada utilizando a regressão linear, calculando-se a razão entre a área sob a curva de cada analito e a área sob a curva de seu padrão interno. O cálculo é baseado na equação da reta de calibração previamente estabelecida, e os resultados são expressos em concentração de $\mu\text{mol/L}$. No entanto, são encontrados na literatura alguns reveses associados à utilização de métodos cromatográficos para quantificação da creatina, estes estão relacionados à interconversão das espécies, através do ciclo de degradação creatina-creatinina. Esses desafios são particularmente críticos na etapa de preparação das amostras, especialmente em etapas que envolvem a extração por fase sólida. Devido a esse efeito, a quantificação de amostras com alto teor de creatina pode apresentar uma superestimação de até 28% na quantidade desta substância. (NOOLEN *et al.*, 2013) (FERNANDEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2015)

Nesse contexto, apesar da fundamentação do método cromatográfico e espectroscópico, surge como uma perspectiva estimulante a adoção do método espectroscópico NIR para a análise de compostos orgânicos. O acervo acadêmico oferece evidências que respaldam a implementação deste método analítico, devido às suas vantagens em termos de velocidade, capacidade de quantificação em baixas concentrações e simplicidade operacional, caracterizada pela eliminação da necessidade de preparação das amostras e a dispensabilidade do consumo de solventes. (LI *et al.*, 2022)

3.3.2.2 Cromatografia Gasosa

3.3.2.2.1 Aplicação na Análise de Creatina

Analogamente, é possível a análise via cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM). A análise baseia-se no mesmo princípio de separação dos componentes, porém, neste caso, a separação ocorre através da vaporização. Combinada ao espectrômetro de massas, essa técnica é capaz de detectar a presença e a concentração dos compostos presentes na amostra de creatina. (BEEKS, 2016)

Durante a condução de um estudo utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas, com o objetivo de detectar deficiências causadas por síndromes que reduzem a quantidade de creatina no cérebro, foi destacada a capacidade analítica deste método para identificação e quantificação de creatina. O

processo de preparação das amostras envolveu os seguintes passos: inicialmente, a guanidina foi submetida a uma reação com hexafluoroacetilacetona em meio básico, resultando na formação de uma estrutura heterocíclica estável. Em seguida, o grupo carboxílico foi reagido com pentafluorobenzol brometo (PFB-Br), produzindo um éster estável que melhorou as propriedades de detecção na espectrometria de massas. (YOUNG; STRUYS; WOOD, 2007)

O processo de preparação das amostras consiste em diversas etapas sequenciais. Inicialmente, o tolueno é evaporado sob um fluxo de nitrogênio utilizando um bloco de aquecimento a 40°C. Em seguida, adiciona-se 100 μL de 7% (v/v) de PFB-Br e 10 μL de trietilamina à amostra, permitindo uma reação de 15 minutos à temperatura ambiente. Posteriormente, adiciona-se 200 μL de HCl 0,5 N e 1 ml de hexano à mistura, seguido de uma mistura vigorosa por 2 minutos para promover a extração. A camada superior, composta por hexano, é então transferida para um frasco para cromatografia gasosa devidamente rotulado para amostras de urina. Para amostras de plasma e líquido cefalorraquidiano, a camada de hexano é transferida para um frasco de GC devidamente rotulado, evaporada sob um fluxo de nitrogênio à temperatura ambiente e, em seguida, dissolvida em 100 μL de hexano antes de ser submetida à análise. (YOUNG; STRUYS; WOOD, 2007)

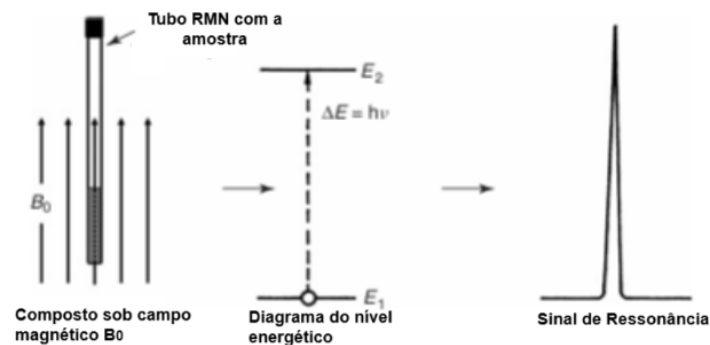
A quantificação das amostras foi realizada por meio da interpolação das razões massa/carga obtidas pelo espectrômetro de massas, permitindo assim a determinação das concentrações de creatina nos tecidos orgânicos analisados. Portanto, o método acoplado de cromatografia gasosa e espectrometria de massas (CG-EM) demonstrou eficácia em termos de aplicação para análises de creatina. No entanto, é importante destacar algumas limitações potenciais, especialmente em relação ao preparo da amostra e ao tempo necessário para análise, o que pode resultar em reverses que precisam ser contornados a fim de garantir a confiabilidade dos resultados. (YOUNG; STRUYS; WOOD, 2007)

3.3.3 Ressonância Magnética Nuclear

O princípio da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é fundamentado nas propriedades magnéticas dos núcleos atômicos. Quando um núcleo interage com um campo magnético externo, ocorre, segundo as leis da mecânica quântica, a formação de um diagrama de níveis de energia. Os valores energéticos dos núcleos, conhecidos como autovalores, estão discriminados para certos níveis de energia e cada um desses níveis está associado a um autoestado, que representa os únicos estados possíveis em que uma partícula elementar pode existir. Através de um transmissor de radiofrequência, esses estados podem ser excitados, promovendo transições entre eles. A energia absorvida durante essas transições é então detectada por um receptor de radiofrequência e reproduzida como uma linha espectral, comumente denominada sinal de ressonância. (GÜNTHER, 2013)

Deste modo, um espectro pode ser gerado para quaisquer moléculas que possuam o núcleo de seus átomos com momento magnético diferente de zero. A formação do sinal de ressonância magnética é demonstrada conforme a Figura 11.

Figura 11 – Sinal da ressonância magnética nuclear



Fonte: adaptado de PISCHEL; GARTNER (2007).

As partes mais importantes de um espectrômetro de RMN são o ímã, a fonte de radiofrequência e o detector. O composto a ser investigado é contido em um tubo de amostra, um tubo de vidro com aproximadamente 15 cm de comprimento e 5 ou 10 mm de diâmetro, no campo magnético externo. O transmissor, que é uma bobina de radiofrequência, emite a radiação e o sinal estimado é detectado, seja pela mesma bobina ou pelo receptor. Após a amplificação e transmissão do sinal para um

software de plotagem de gráficos, o espectro pode ser registrado e as frequências de ressonância podem ser medidas. (GÜNTHER, 2013)

3.3.3.1 Aplicação na Análise de Creatina

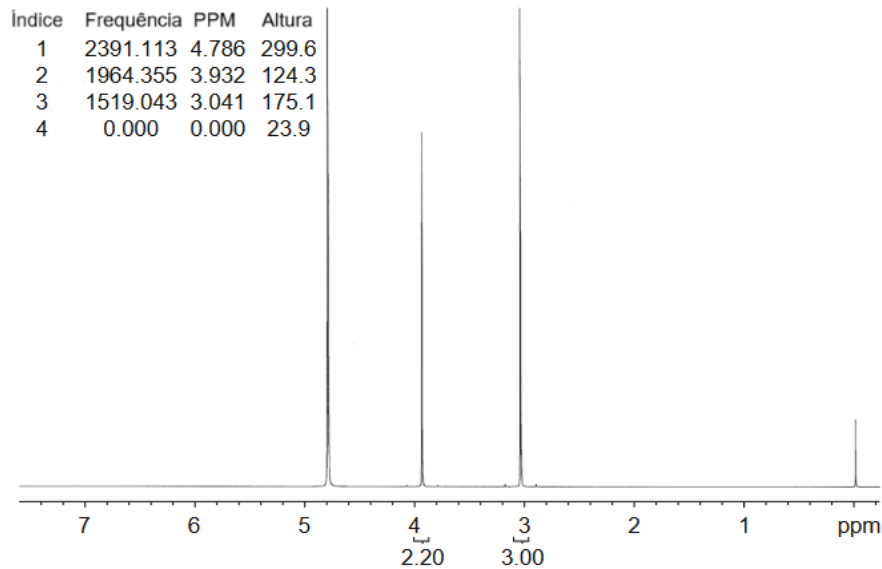
O método de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para análise de creatina envolve a medição dos sinais de ressonância magnética nuclear de prótons presentes na creatina. A identificação é feita através de singletos, que são os picos de ressonância associados aos grupos químicos da creatina e creatinina, um em 3,05 ppm, correspondente ao grupo metil da creatina, e outro em 3,13 ppm, atribuído ao mesmo grupo da creatinina. O processo analítico, comumente descrito na literatura, é um ensaio de cinco etapas que requer tratamento prévio das amostras, devido às condições indeterminadas em que as amostras de urina são recebidas. (CARTIGNY *et al.*, 2002) (MENCARELLI *et al.*, 2011)

Na literatura, esse procedimento é detalhado em um estudo que aborda o defeito no transportador de creatina, diagnosticado por espectroscopia de RMN de prótons em homens com deficiência intelectual. Nele, descreve-se que amostras de urina são previamente centrifugadas e transferidas para um tubo de RMN, juntamente com uma solução padrão de referência, o ácido 3-(trimetilsilil)propiónico, para calibração e referência dos sinais. Devido à presença de ambas as espécies, creatina e creatinina na amostra, é necessário ajustar o pH para separar os sinais, promovendo a degradação parcial da creatina em creatinina. O pH é ajustado para 2,5, condição em que os sinais do grupo metil da creatina e da creatinina são completamente separados. (MENCARELLI *et al.*, 2011)

A amostra é então inserida no espectrômetro RMN, onde os sinais de ressonância dos prótons de ambas as espécies são registrados. Outro procedimento descrito no estudo envolve a supressão do sinal de água presente nas amostras, o que melhora a qualidade dos espectros. Assim, os espectros são processados, e a quantificação é realizada com base na área dos picos de ambos os metabólitos, obtendo-se a razão entre a concentração de creatina e creatinina. A Figura 12 representa uma exemplificação de espectro obtido para creatina, utilizando o espectrômetro RMN.

(MENCARELLI *et al.*, 2011)

Figura 12 – Espectro RMN



Fonte: adaptado de SINGH; DASH (2009).

Apesar da utilização do espectrômetro RMN para a análise da creatina e seus metabólitos na urina e no sangue, a literatura evidencia alguns obstáculos associados a este método analítico. Primeiramente, o preparo da amostra é necessário, o que no estudo mencionado envolve uma centrifugação que demanda aproximadamente cinco minutos. Além disso, há a necessidade de tratamento para supressão de ruídos provenientes da água, que interferem na leitura dos espectros. Também existem desafios relacionados ao pós-processamento dos dados obtidos, que requer a consideração e correção de vários parâmetros experimentais para se obter concentrações absolutas dos metabólitos. (MENCARELLI *et al.*, 2011) (FALLER *et al.*, 2013)

A quantificação por RMN oferece benefícios como a rápida obtenção de resultados, a característica de ser uma técnica não invasiva, e a dispensabilidade da derivatização prévia das amostras. Isso simplifica o procedimento analítico e mantém a integridade das amostras, proporcionando dados precisos e rápidos sem a necessidade de etapas preparatórias complexas. (LEITE, 2014)

Entretanto, a técnica de RMN apresenta algumas desvantagens importantes, como o alto custo do equipamento e a necessidade de operadores altamente qualificados,

além de sua baixa sensibilidade e a exigência de um grande espaço físico para a instalação, o que pode limitar sua acessibilidade e uso em alguns laboratórios e aplicações específicas. (EMWAS, 2015)

3.3.4 Colorimetria

A colorimetria é um método de baixo custo operacional, facilidade de uso e potencial para análises quantitativas e qualitativas (LETTIERI *et al.*, 2023) em que a identificação da concentração do analito está associada à adição de um reagente que, ao reagir com o analito, forma um produto de cor específica. A intensidade da cor resultante é diretamente proporcional à concentração do analito. A determinação colorimétrica foi impulsionada através da reação de coloração descoberta por Jaffé em 1886, onde a creatinina, forma degradada da creatina, reage com ácido pícrico em solução alcalina, formando um complexo de cor laranja-avermelhada com comprimento de onda próximo a 500 nm. (SALOMONS; WYSS, 2007)

A colorimetria é uma forma de fotometria, fundamentalmente caracterizada como a técnica que detecta a luz e monitora as variações em sua intensidade. O termo “foto” deriva de luz. Um fotômetro é um dispositivo que mede a energia das ondas eletromagnéticas, abrangendo desde a radiação infravermelha até a radiação ultravioleta, incluindo a porção visível do espectro eletromagnético. Este instrumento converte a luz em corrente elétrica por meio de uma fotocélula. Quando a luz medida se encontra na faixa visível da radiação eletromagnética, a técnica é denominada colorimetria. Neste método, um feixe de luz de uma fonte luminosa atravessa o porta-amostras contendo o analito em solução, resultando em uma intensidade de luz transmitida inferior àquela que passa originalmente pela amostra na cubeta. (SHRESTHA; KUMARI; KRISHNA, 2023)

Entretanto, a colorimetria possui desvantagens como a incapacidade de ser utilizada para substâncias que não possuem cor, a limitação em medir concentrações muito elevadas, o que reduz sua sensibilidade, e a possibilidade de erros decorrentes de uma fonte de luz instável. (SHRESTHA; KUMARI; KRISHNA, 2023)

3.3.4.1 Aplicação na Análise de Creatina

Na literatura, há relatos sobre o desenvolvimento de novas metodologias para a análise colorimétrica da creatina e seus derivados. Em 1987, foi conduzido um estudo que propôs um novo método colorimétrico para a determinação da creatina fosfoquinase. A creatina fosfoquinase é uma enzima encontrada em abundância nos músculos esqueléticos e catalisa uma reação enzimática que produz creatina. A creatina formada enzimaticamente a partir da creatina fosfato e ADP reage com o PNPG (p-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo) para formar um produto colorido, que apresenta absorção máxima em 480 nm. (AMINLARI; VASEGHI, 1987)

Essa reação de coloração é rápida e pode ser concluída em 10 minutos a 25 °C em uma solução tampão específica contendo pirofosfato de sódio e ascorbato de sódio. O produto colorido gerado é estável por pelo menos 24 horas e segue a Lei de Beer na faixa de concentração de 0,005 a 0,05 mmol/L de creatina. A quantificação da atividade da creatina quinase é realizada medindo-se a absorbância do produto colorido formado. (AMINLARI; VASEGHI, 1987)

Apesar de o método colorimétrico demonstrar-se como referência no âmbito da análise da creatina e seus metabólitos, este ainda possui algumas restrições que estão associadas à sensibilidade e à variação das condições experimentais, o que afeta a precisão e reprodutibilidade dos resultados. A especificidade da reação também influencia muito no desempenho analítico do método, uma vez que, embora a reação seja específica para compostos contendo o grupo guanidino, é importante assegurar que não haja interferência de outras substâncias presentes na amostra que possam reagir com o PNPG e gerar resultados enganosos. (SALOMONS; WYSS, 2007) (AMINLARI; VASEGHI, 1987)

3.3.5 Termogravimetria

A análise termogravimétrica, também conhecida como termogravimetria, é um método analítico destrutivo (GOMES *et al.*, 2018) utilizado para medir a variação da massa de uma amostra em função da variação de temperatura. Durante este processo, a amostra é exposta a um ambiente de temperatura e atmosfera controladas. Essa atmosfera

controlada é alcançada mediante o uso de um gás específico, que pode ser empregado para criar um ambiente inerte, garantindo a precisão das medições. A análise é realizada aquecendo uma amostra a uma taxa constante de aumento de temperatura. Para isso, a amostra de interesse é posicionada dentro de um cadinho acoplado a uma termobalança, que é então inserido no forno para o aquecimento controlado da amostra. Os resultados são comumente exibidos em uma curva termogravimétrica, que relaciona a perda de massa com a temperatura ou o tempo de aquecimento. (MENCZEL; PRIME, 2009)

Apesar de demonstrar aplicabilidade, em relação a determinação da massa da amostra presente após tratamento térmico para volatilização de outros contaminantes. A Termogravimetria demonstra certa limitação para analisar determinados tipos de amostra, sobretudo, em analitos que são compostos por misturas de componentes. (MERWE; STRYDOM, 2004)

3.3.5.1 Aplicação na Análise de Creatina

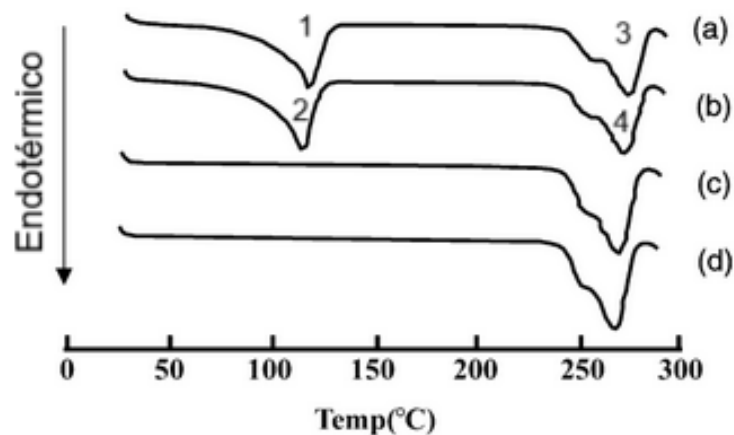
No âmbito da análise da creatina, a gravimetria é evidenciada na literatura como um dos métodos de verificação da quantidade desta substância por amostra, sobretudo em relação à massa de água associada à creatina monohidratada. No repertório acadêmico, foi possível evidenciar a aplicação da análise termogravimétrica, empregando esta técnica em um estudo intitulado "Characterization of dehydration behavior of untreated and pulverized creatine monohydrate powders," realizado em 2003 por Sakata e colaboradores. Este trabalho teve sucesso na determinação da quantidade de água presente em amostras de creatina sob diferentes condições de pré-tratamento. Para tal, foram utilizados dois padrões amostrais de creatina com alto grau de pureza. É importante destacar que o estudo utiliza diversos métodos instrumentais para a análise.

Contudo, nesta monografia, será descrita exclusivamente a metodologia referente à análise termogravimétrica e os dados obtidos através dessa técnica. (SAKATA; SHIRAISHI; OTSUKA, 2004a)

A análise de Sakata foi realizada pesando-se 10 mg da amostra dentro do cadinho. A faixa de temperaturas variou de 25 °C a 300 °C, com uma taxa de aquecimento de

10 °C/min. Foi utilizada a técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), na qual a diferença dos fluxos de calor entre a substância e a referência é medida em função da temperatura da amostra. Os dados obtidos através do termograma gerado, relacionando a temperatura das amostras com os picos endotérmicos, demonstraram dois picos principais. Para a amostra de creatina monohidratada não tratada, bem como para a amostra pulverizada, os picos 1 e 2 foram observados próximos à temperatura de 125 °C. Com o aumento da temperatura, outros dois picos, 3 e 4, foram registrados, correspondendo a 234,7 °C e 234,3 °C, respectivamente. Todos evidenciados conforme indica a Figura 13. (SAKATA; SHIRAISHI; OTSUKA, 2004a)

Figura 13 – Gráfico Termogravimétrico para creatina: (a) monohidratada não tratada, (b) monohidratada pulverizada, (c) anidra não tratada, (d) anidra pulverizada



Fonte: adaptado de SAKATA; SHIRAISHI; OTSUKA (2004).

Os resultados observados apontam para o fenômeno de desidratação da creatina. Os picos 1 e 2, endotérmicos, correspondem à perda da molécula de água, onde a creatina monohidratada se converte em creatina anidra. Com o aumento da temperatura, próximo a 235 °C, a creatina sofre uma nova desidratação, representada pelos picos 3 e 4, perdendo outra molécula de água e iniciando o processo de ciclização. Concomitantemente, ocorre o início do processo de decomposição à medida que a temperatura continua a subir. Estes achados são evidenciados por outro estudo realizado em 2000, intitulado "Solid-state Properties of Creatine Monohydrate", conduzido por Dash e colaboradores. (SAKATA; SHIRAISHI; OTSUKA, 2004a) (DASH; MO; PYNE, 2002)

O estudo determinou a razão para a perda de massa nas temperaturas específicas. Utilizando uma amostra de 10 mg, observou-se que a 125 ° C a creatina sofre a primeira perda de massa, correspondendo à eliminação da água livre presente na amostra. No segundo pico de temperatura, a redução de massa é associada à perda de uma molécula de água intramolecular, ocorrendo durante o processo de ciclização da creatina, que degrada para seu metabólito, a creatinina. Além disso, foi verificado que a perda de massa na primeira desidratação, referente exclusivamente à creatina, é de aproximadamente 12%. (DASH; MO; PYNE, 2002)

3.4 QUIMIOMETRIA

A quimiometria é uma disciplina científica intimamente conectada com a estatística e a matemática, desempenhando um papel crucial na química analítica (VONČINA, 2009). A disciplina, originada na química, emprega métodos matemáticos e estatísticos para fornecer informações relevantes sobre sistemas, como a criação de relações quantitativas entre estrutura e atividade e a análise de dados analíticos. O termo "quimiometria" foi originado em 1972 por Svante Wold e Bruce R. Kowalski, e a disciplina foi oficialmente estabelecida com a criação da Sociedade Internacional de Quimiometria em 1974. Atualmente, a quimiometria é descrita como a disciplina química que utiliza métodos matemáticos e estatísticos para projetar ou selecionar procedimentos de medição e experimentos adequados, proporcionando assim o máximo de informações por meio da análise de dados experimentais. (OTTO, 2023)

Esse procedimento matemático segue uma abordagem estruturada que começa com a coleta de dados relevantes, seguida pelo pré-processamento para assegurar a qualidade e consistência desses dados. Após essa fase, são utilizadas técnicas de análise exploratória de dados, como a análise de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamento, visando identificar padrões, relações e estruturas presentes nos dados. A partir dessas análises, criam-se modelos estatísticos para interpretar e antecipar o comportamento dos dados, empregando técnicas como regressão multivariada, análise discriminante e redes neurais artificiais. (VONČINA, 2009)

A PCA é uma técnica estatística que transforma um conjunto inicial de variáveis em um

número menor de novas variáveis não correlacionadas, mantendo a maior parte das informações do conjunto original. Na PCA, os dados são organizados em uma matriz de duas dimensões, onde as colunas representam as variáveis e as linhas representam os "objetos" ou amostras de onde essas variáveis são medidas. (WÓJCICKI, 2017)

Validar os modelos é essencial para garantir sua robustez e capacidade de generalizar para novos conjuntos de dados, possibilitando interpretações confiáveis dos resultados e a extração de informações pertinentes para decisões bem informadas. Por fim, os resultados e percepções obtidos por meio da quimiometria são utilizados em várias áreas, como química ambiental, química de alimentos, biologia e outras disciplinas científicas, ajudando significativamente na compreensão e resolução de problemas complexos em diversos campos de estudo. (VONČINA, 2009)

3.4.1 Vantagens da Quimiometria

Métodos quimiométricos são cruciais para lidar com resultados analíticos, incluindo análise estatística básica, análise de componentes principais (PCA), análise de agrupamento e análise discriminante linear. Esses métodos são essenciais para revelar informações importantes em dados multivariados originados por instrumentos analíticos, bem como para o controle de instrumentos e calibração multivariada. Além disso, a quimiometria pode ser aplicada em diversas áreas, como biologia, química de alimentos, química forense, geoquímica e arqueologia, para determinar propriedades de amostras individuais. É fundamental ressaltar a importância de medidas de alta qualidade, precisas e confiáveis para obter informações de alta qualidade a partir de dados multivariados. (VONČINA, 2009)

A quimiometria oferece vantagens que influenciam positivamente tanto a prática laboratorial quanto a pesquisa em química. Essa disciplina permite manejar eficazmente a crescente quantidade de dados produzidos por instrumentos analíticos modernos, resultando em maior produtividade e/ou redução de custos. Além disso, a quimiometria melhora a precisão e a veracidade dos resultados, aumenta a segurança nas operações laboratoriais e facilita a validação dos diversos passos de um procedimento analítico. Com a automação crescente nos laboratórios, há um aumento no número de

medições disponíveis online, que podem ser processadas por métodos quimiométricos de avaliação de dados, proporcionando uma análise mais eficiente e confiável. As vantagens da quimiometria incluem o aumento da produtividade e/ou redução de custos, a melhoria na precisão e na veracidade dos resultados, maior segurança nas operações laboratoriais e a facilidade na validação dos diferentes passos de um procedimento analítico. Além disso, a quimiometria permite gerenciar grandes volumes de dados gerados por instrumentos analíticos modernos, otimiza separações cromatográficas, prevê a atividade biológica de compostos químicos e contribui para o desenvolvimento de relações quantitativas entre estrutura e atividade. (OTTO, 2023)

Portanto, a quimiometria se firma como uma disciplina vital para a ciência moderna, potencializando a análise de dados e contribuindo significativamente para diversas áreas do conhecimento. Com a capacidade de lidar com grandes volumes de dados e melhorar a precisão das análises, a quimiometria não só otimiza processos laboratoriais, mas também impulsiona avanços em biologia, química e outras ciências. Sua aplicação eficiente e precisa garante a obtenção de resultados confiáveis, solidificando seu papel essencial na pesquisa e na prática científica.

3.4.2 Construção da Curva de Calibração

Para a construção de métodos eficazes de calibração é essencial cumprir determinados requisitos para a determinação precisa das características do analito. Primeiramente, é necessário estabelecer uma calibração satisfatória de equações multivariáveis. Além disso, é imprescindível a utilização de um modelo estatístico apropriado e de uma base de dados satisfatória. No entanto, a literatura não define de forma imperativa o número de amostras necessário para obter uma correlação linear satisfatória. A quantidade de amostras selecionada depende do método de tratamento de dados empregado e do tipo de amostra a ser analisada. Diferentes métodos podem ser aplicados: em alguns casos, é possível determinar o número de amostras com base em resultados e dados teóricos provenientes de estudos que abordam a análise da amostra em questão. Em outros casos, pode-se aplicar uma estimativa aleatória suficientemente abrangente para obter uma curva de calibração com boa correlação. (BLANCO; CRUZ; BAUTISTA, 2008)

Ao buscar informações referentes à quantidade de amostras na literatura, foi identificado um estudo intitulado "Development of a Univariate Calibration Model for Pharmaceutical Analysis Based on NIR Spectra", realizado em 2008 por Blanco e colaboradores. Este artigo tinha como objetivo transformar o modelo multivariado, usualmente aplicado na análise por espectroscopia NIR, em uma correlação linear de uma única variável. A amostra analisada tratava-se de um princípio ativo presente em fármacos. A construção do modelo foi realizada com um total de 15 amostras, analisadas em triplicata. O estudo demonstrou uma boa linearização da reta de calibração, apresentando um coeficiente de correlação (R^2) de 0,9991. (BLANCO; CRUZ; BAUTISTA, 2008)

Em relação aos métodos aplicados para a análise de creatina e à utilização de técnicas de tratamento de dados, como a Análise de Componentes Principais (PCA), que também é um método multivariado, a literatura indica que a correlação é favorecida pelo aumento da quantidade de amostras. Isso é evidenciado principalmente ao se considerar dois princípios essenciais para a construção de uma curva de calibração robusta. Primeiro, por se tratar de um método estatístico, uma maior quantidade de amostras melhora a estimativa de precisão do modelo de tratamento de dados. Segundo, refere-se à adequação do modelo em relação ao banco de dados das amostras em questão. Assim, para ambos os aspectos, o aumento do número de amostras na construção de uma curva de calibração infere não apenas em maior precisão, mas também em menor aleatoriedade da análise. No entanto, é importante ressaltar que o número de amostras necessário não é fixo e está sujeito a diversos fatores, como a escolha do modelo de tratamento de dados, o tipo de amostra analisada e as informações disponíveis na literatura. (BLANCO; CRUZ; BAUTISTA, 2008)

4 METODOLOGIA

4.1 IDENTIFICAÇÃO DO PROBLEMA

O estudo fundamentou-se na metodologia de pesquisa de revisão integrativa, que é um método de revisão específico que combina dados de diversas fontes, incluindo estudos empíricos e teóricos, para fornecer uma compreensão abrangente de um fenômeno ou problema específico (WHITTEMORE; KNAFL, 2005).

No entanto, dado que o objetivo final era o planejamento de um experimento, o procedimento final do método foi simplificado. Esta adaptação referente à simplificação da catalogação das fontes foi necessária para evitar que a progressão conceitual se desviasse do foco principal do trabalho, garantindo assim uma abordagem mais direta e alinhada aos objetivos da pesquisa.

4.2 BUSCA DA LITERATURA E SELEÇÃO DOS ESTUDOS

As buscas na literatura e a seleção dos trabalhos foram adaptadas para incluir uma gama mais ampla de fontes relevantes.

As buscas em base de dados foram realizadas nas duas últimas semanas de maio de 2024 em diversas bases de dados eletrônicas, incluindo Scopus, Web of Science, e Google Acadêmico. Além disso, foram consultados livros e capítulos de livros relevantes disponíveis em bibliotecas físicas e digitais. Essas fontes foram escolhidas em virtude de sua abrangência e pertinência ao tema em questão.

Para a busca, foram utilizados descritores e palavras-chave combinados de forma a capturar a maior quantidade possível de estudos pertinentes. Os termos de busca foram definidos com base na pergunta de pesquisa e incluíram palavras-chave principais, bem como seus sinônimos e termos relacionados. Exemplos de termos utilizados incluem: "creatine", "infrared", "near infrared", "sports supplementation", "chemometrics", "miniaturized NIR", "analytical chemistry", entre outros.

Os critérios de inclusão do artigo foram referentes principalmente à relevância ao tema, qualidade metodológica, área de aplicação relacionada ao problema e ao tipo

de publicação, como artigos presentes em fontes confiáveis, livros, capítulos de livros, teses e dissertações relevantes

4.3 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE DADOS

A extração de informações foi realizada de maneira detalhada e abrangente com o objetivo de identificar seções que, embora não tratassem diretamente da análise de teor de creatina por espectroscopia NIR, continham dados relevantes. Cada estudo foi examinado cuidadosamente para extrair informações fragmentadas e complementares tanto sobre a creatina em si quanto a possibilidade de aplicação do método em questão, incluindo minúcias sobre objetivos, metodologias, resultados e conclusões. Esta abordagem permitiu aglutinar dados dispersos que, juntos, contribuíram para uma compreensão mais completa do tema. A extração foi iterativa, exigindo múltiplas leituras e anotações detalhadas para garantir que todas as informações pertinentes fossem capturadas.

À medida que novos dados eram requisitados e obtidos, eles eram imediatamente incorporados à análise, permitindo ajustar continuamente a interpretação dos dados de acordo com as novas informações adquiridas. A análise foi realizada simultaneamente com a coleta de dados, facilitando a integração dos novos achados e a adaptação das conclusões conforme necessário. Essa abordagem dinâmica implicou em uma constantemente pertinente e atualizada, refletindo fielmente o progresso da pesquisa.

4.4 SÍNTESE DOS RESULTADOS

A síntese dos resultados do presente trabalho foi realizada a partir da análise cuidadosa do referencial teórico, seguido pela seleção e organização das informações que justificassem os argumentos apresentados na proposição do TCC.

Cada seção do trabalho foi estruturada para evidenciar a eficácia da espectroscopia NIR na análise de compostos específicos de forma progressiva, destacando estudos que demonstram sua precisão, rapidez e capacidade de lidar com amostras complexas sem a necessidade de preparação extensiva. A partir dessa base, foram extraídos dados e exemplos práticos que mostraram como a espectroscopia NIR pode ser aplicada para

medir o teor de creatina com alta precisão.

A síntese dos resultados forneceu uma visão abrangente e fundamentada sobre a viabilidade da espectroscopia NIR para a análise do teor de creatina, justificando a proposição do TCC e indicando um caminho promissor para futuras pesquisas e aplicações comerciais. Esta abordagem integrativa não só confirma a eficácia da técnica, mas também contribui para o avanço do conhecimento na área de análise espectroscópica de compostos em amostras comerciais.

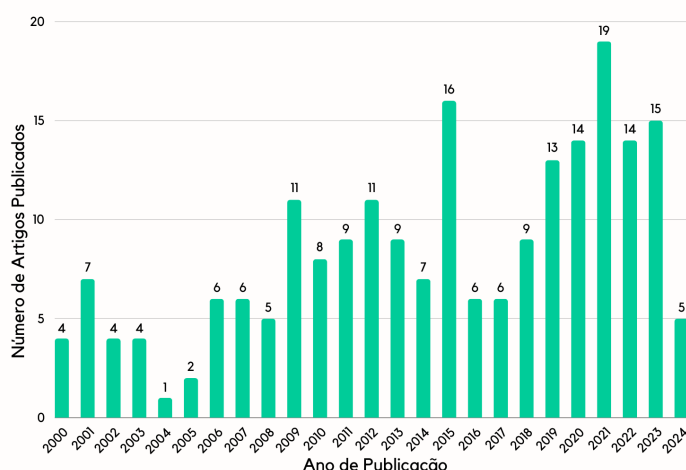
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RESULTADOS BIBLIOMÉTRICOS DAS PRINCIPAIS BASES DE DADOS

De acordo com uma análise bibliométrica feita no Web of Science, foram encontrados 62 artigos publicados a partir dos anos 2000 com a busca pelos tópicos “creatine” e “near infrared” em suas palavras-chave. Assim, os resultados não foram agradáveis para o objetivo da busca, uma vez que a média de publicações ficou entre 5 artigos a cada dois anos. Além disso, de todos os artigos referentes aos termos pesquisados contidos na base de dados em questão, somente 3 estavam classificados nas áreas de pesquisa “Chemistry” ou “Spectroscopy”, representando 4,84% do total.

Ao realizar uma busca por “creatine” e “infrared” ainda no Web of Science, foram encontrados 211 artigos publicados desde os anos 2000 e, em consonância com a Figura 14, o ano em que mais houve pesquisas relacionadas ao tema publicadas foi em 2021, seguido por 2015 e 2023. Dentre os 211 artigos contemplados nessa busca, 49 estavam classificados nas áreas de pesquisa “Chemistry” ou “Spectroscopy”, representando 23,22% do total. A seguir está a Figura 14, um gráfico com os artigos publicados em Web of Science nos últimos 25 anos.

Figura 14 – Artigos referentes a creatina e infravermelho publicados no Web Of Science nos anos de 2000 até 2024.



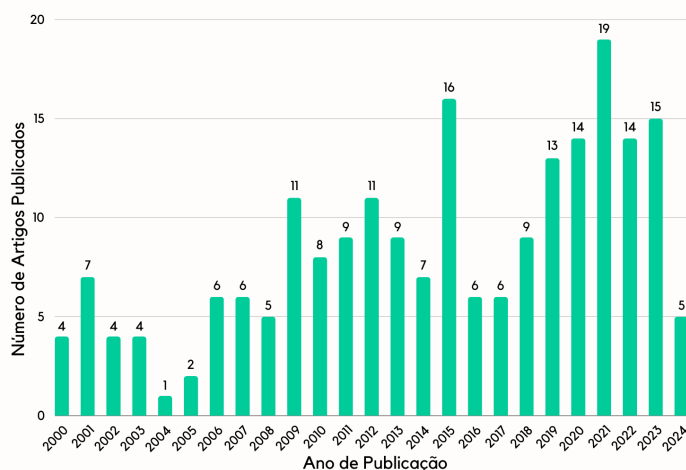
Fonte: elaborado pelos autores (2024).

Em sequência, foi realizada uma busca detalhada por trabalhos publicados na base de dados Scopus, onde foram encontrados 144 artigos publicados a partir dos anos

2000. A pesquisa utilizou as palavras-chave "creatine" e "near infrared" novamente a fim de garantir a relevância dos resultados. Dos 144 artigos identificados, apenas 4 estavam catalogados especificamente na área de pesquisa "Chemistry", indicando uma concentração baixa de 2,78% dos estudos diretamente relacionados a essa área específica dentro do conjunto de dados obtidos.

Ainda na biblioteca Scopus, houve registro de 351 documentos que citam em suas palavras-chave os termos "creatine" e "infrared" desde os anos 2000. De acordo com a Figura 15 a seguir, é possível observar que, em contraste com a biblioteca Web of Science, o ano em que mais houve pesquisas publicadas em Scopus foi 2022, seguido por 2024 e 2021 empatados. Dentre os 351 artigos contemplados nessa busca, 40 estavam classificados nas áreas de pesquisa "Chemistry" e tal presença corresponde a 11,39% do total. A seguir está a Figura 15, um gráfico com os artigos publicados em Scopus nos últimos 25 anos.

Figura 15 – Artigos referentes a creatina e infravermelho publicados no Scopus nos anos de 2000 até 2024.



Fonte: elaborado pelos autores (2024).

Evidentemente tal análise fundamenta-se na necessidade de evidenciar a relevância do tema proposto neste trabalho nos últimos 25 anos. Assim, buscando na literatura por artigos que traziam em suas palavras-chave "creatine" e "NIR" foram encontrados apenas 7 artigos em Scopus e 17 em Web of Science e a maior parte dos artigos não estava diretamente ligada aos aspectos da química.

Para contruir esta monografia, foram utilizadas 89 referências, das quais 18 eram

provenientes de livros coletados de bibliotecas digitais e 60 de artigos científicos. 40 referências foram obtidas através das bases de dados Web of Science e Scopus, onde todas estas constavam em ambas as bases. 8 artigos estavam presentes somente na base de dados Scopus e 11 da base de dados Google Acadêmico (Google Scholar). Nenhuma referência foi obtida diretamente das bases PubMed ou SciELO. De todas as referências utilizadas, 31 estavam catalogadas ao menos em Química Analítica, fornecendo uma base sólida para a compreensão dos métodos e técnicas analíticas relevantes para o estudo. 16 referências abordavam especificamente a espectroscopia NIR, técnica central para a análise de creatina neste trabalho. Outras 59 referências abordavam diversas técnicas analíticas, incluindo RMN, colorimetria, UV, cromatografia, Raman, TGA e infravermelho, contribuindo para uma visão abrangente e comparativa das metodologias disponíveis para a análise de creatina e outros compostos. 11 referências fizeram parte da justificativa do modelo de trabalho e da legislação abordada no mesmo.

Através da plataforma Fala.BR, Plataforma Integrada de Ouvidoria e Acesso à Informação, foram consultados os órgãos ANVISA e Polícia Federal em busca de dados de falsificação de creatina e apreensões, entretanto foi obtido como resposta que tais dados não constam nos sistemas informatizados dos órgãos.

5.2 LEGISLAÇÃO

A revisão da legislação referente à creatina pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) revela um panorama de regulamentação relativamente recente e ainda em desenvolvimento. Até 2018, não existiam definições legais amplas e específicas para suplementos alimentares, o que resultava em uma legislação pouco rigorosa e em uma fiscalização limitada dos produtos disponíveis no mercado. A ausência de metodologias padronizadas para a análise de creatina complicou ainda mais o cenário regulatório, dificultando a garantia de qualidade e segurança dos produtos para os consumidores. (MOLIN *et al.*, 2019b)

Com a Resolução RDC Nº 243 de 2018, a ANVISA estabeleceu requisitos claros para a classe de suplementos alimentares, incluindo a creatina. Esta resolução, junto com

a Instrução Normativa IN Nº 28 de 2018, introduziu diretrizes detalhadas sobre os constituintes permitidos, rótulos autorizados, aditivos e procedimentos de regularização dos suplementos. Especificamente para a creatina, a ANVISA permite a adição de carboidratos à composição final e estipula que a dose descrita nos rótulos deve conter entre 1,5 a 3,0 gramas de creatina.

Essa regulamentação tem implicações diretas na necessidade de métodos analíticos precisos e confiáveis para a verificação do teor de creatina nos produtos comerciais. A ausência de metodologias padronizadas destaca a relevância do desenvolvimento de novas abordagens, como a espectroscopia NIR, para atender às exigências regulatórias e garantir a conformidade dos produtos no mercado. Portanto, a proposta deste trabalho visa preencher essa lacuna, oferecendo um método rápido, preciso e economicamente viável para a análise de creatina, alinhado com os requisitos estabelecidos pela ANVISA.

O desenvolvimento de um método analítico robusto associado à espectroscopia NIR pode melhorar significativamente a fiscalização e a conformidade dos produtos, garantindo que os suplementos no mercado atendam aos padrões de qualidade e segurança estabelecidos.

5.3 ASPECTOS DA CREATINA

A creatina, de fórmula molecular $C_4H_9N_3O_2$ e massa molar de 131,13 g/mol, possui grupos funcionais como amina terciária, ácido carboxílico, amina primária e imina (CACCAMO; MAGAZÙ, 2022) (BRUICE, 2017). Essas características estruturais são fundamentais para a análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), pois permitem a interação específica da creatina com a radiação infravermelha, resultando em espectros distintos que podem ser utilizados para sua identificação e quantificação (WÓJCICKI, 2017). A capacidade da espectroscopia NIR de detectar e diferenciar essas bandas de absorção específicas torna a técnica especialmente adequada para a análise precisa do teor de creatina em amostras comerciais.

Além disso, a creatina é sintetizada a partir da cianamida com sarcosinato de sódio e ácido acético (SMITH; TAN, 2006), passando por um processo de micronização que

melhora a absorção pelo corpo (HEZAVE *et al.*, 2010). Este conhecimento sobre a síntese e a forma micronizada da creatina é relevante para garantir a pureza do produto final, aspecto que pode ser verificado através dos espectros NIR. A estabilidade da creatina monoidratada em condições de armazenamento também é um fator positivo para sua análise por NIR (KREIDER; JÄGER; PURPURA, 2022). A creatina monoidratada é estável e sofre desidratação a 125 ° C, decompondo-se em creatinina e mudando de fase a 290 ° C (ZAGO; SILVA; BUENO, 2023) (SHIVER, 1929) (SAKATA; SHIRAISHI; OTSUKA, 2004a) (DASH; MO; PYNE, 2002). Essa estabilidade assegura que a creatina permaneça inalterada durante a aquisição dos espectros, garantindo assim a precisão dos resultados.

Um fator adicional a ser considerado é a capacidade higroscópica da creatina, que absorve umidade do ambiente. Isso torna essencial o armazenamento adequado para evitar alterações durante a análise, uma vez que a umidade pode interferir nos espectros NIR (SAKATA; SHIRAISHI; OTSUKA, 2004b). Portanto, é crucial que as análises sejam conduzidas em ambientes com umidade controlada. Finalmente, a creatina sofre ciclização intramolecular quando em solução aquosa, convertendo-se em creatinina com o tempo, especialmente em meios acidificados (SALOMONS; WYSS, 2007). A espectroscopia NIR se mostra capaz de monitorar essa conversão.

5.4 ANÁLISE DE CREATINA POR INFRAVERMELHO PRÓXIMO

A análise da aplicação da espectroscopia NIR na análise de creatina revelou várias características promissoras para sua viabilidade, uma vez que a técnica se baseia na análise dos grupos químicos presentes na estrutura molecular da creatina, como O-H, N-H e C-H, permitindo sua identificação e quantificação. Esses grupos funcionais apresentam bandas características no espectro de absorção NIR, o que facilita sua distinção de outros compostos presentes em amostras comerciais (OZAKI *et al.*, 2020). Além disso, a aplicação da Transformada de Fourier à NIR permite uma análise detalhada e simultânea de múltiplos comprimentos de onda, resultando em maior rapidez e precisão nas medições (OZAKI *et al.*, 2020). A miniaturização dos espectrômetros NIR e o uso de tecnologias semicondutoras e nanomateriais em detectores contribuem para sua eficiência e sensibilidade, tornando a técnica mais acessível e ampliando suas

possibilidades de aplicação (GAO *et al.*, 2023) (ROGALSKI, 2011) (GAO *et al.*, 2023).

A relevância da espectroscopia NIR na análise de creatina é evidenciada pela sua ampla utilização na indústria farmacêutica, onde é empregada para monitorar processos de síntese e purificação de compostos, incluindo a própria creatina (CIURCZAK; IGNE, 2014). Além disso, estudos demonstraram a eficácia da espectroscopia de infravermelho na detecção de creatina em tecido muscular (JERÔNIMO *et al.*, 2012), tecido cerebral (DULINSKA *et al.*, 2012) e urina (DOU *et al.*, 1996), validando sua aplicação em diferentes tipos de amostras. Essas descobertas sugerem que a NIR é uma ferramenta versátil e robusta para a análise de creatina em amostras comerciais, oferecendo análises rápidas, precisas e não invasivas. No entanto, apesar dos benefícios evidentes, é importante reconhecer a necessidade de pesquisas adicionais para adaptar e validar a metodologia proposta especificamente para a análise de creatina em pó, considerando os desafios técnicos e a escassez de estudos específicos nesta área.

5.5 COMPARAÇÃO COM OUTROS MÉTODOS ANALÍTICOS

Para a análise detalhada dos diferentes métodos analíticos utilizados na pesquisa, é fundamental compreender suas respectivas vantagens e desvantagens. O Quadro 1, demonstrado abaixo, apresenta uma comparação dos métodos analíticos presentes no referencial teórico, destacando pontos fortes e limitações de cada abordagem. Esta comparação permite uma avaliação crítica das metodologias, facilitando a escolha do método mais adequado de acordo com os objetivos específicos do estudo e os recursos disponíveis. Por meio dessa análise comparativa, busca-se proporcionar uma visão clara e objetiva sobre a eficiência, precisão, custo e aplicabilidade de cada método, contribuindo para uma tomada de decisão informada no contexto das análises realizadas neste trabalho.

Quadro 1 – Quadro demonstrativo das particularidades dos métodos analíticos.

| Método Analítico | Vantagens | Desvantagens | Tratamento de Dados | Fonte |
|--------------------------------|--|--|---------------------|--|
| Infravermelho | Técnica não-destrutiva Rapidez e eficiência na análise Identificação de grupos funcionais Alta sensibilidade e precisão | Sobreposição de bandas espectrais Dificuldade em identificar bandas específicas (NIR) | Indispensável | SHAW et al., 1996 OZAKI et al., 2020 JERÓNIMO et al., 2012 BEC; GRABSKA; HUCK, 2022 |
| Raman | Técnica não-destrutiva Alta sensibilidade Uso em vários tipos de amostra | Sobreposição de bandas espectrais Presença de ruído de fundo Sinal Raman pode ser fraco Sensível à fluorescência | Indispensável | HOFFMANN, 2023 PETERSEN; YU; LU, 2021 BERWEGER; RASCHKE, 2010 CORUJO et al., 2022 MOREIRA et al., 2020 |
| UV-Vis | Técnica não-destrutiva Alta sensibilidade e precisão Uso em vários tipos de amostra | Eventual necessidade de preparo de amostra Altamente sensível à presença de impurezas na amostra Interferências por absorção de outros compostos Suscetibilidade à interferência de solventes | Dispensável | PRABHUMIRASHI; KUNTE, 1986 PICOLLO; ACETO; VITORINO, 2019 FEIZI et al., 2022 SINGHAL et al., 2024 |
| Cromatografia Líquida e Gasosa | Grande capacidade de resolução Capaz de separar e analisar misturas complexas Detecção simultânea de múltiplos componentes | Necessidade de preparo de amostra Consumo de solventes ou gases de alta pureza Não há sistema de detecção universal, variando de análise para análise | Indispensável | POLO, 2015 ALI, 2022 |
| RMN | Técnica não-destrutiva Rapidez na análise Não requer preparo de amostra | Instrumento caro Requer operadores altamente qualificados Baixa sensibilidade Grande espaço físico necessário | Indispensável | LEITE, 2014 .EMWAS, 2015 |
| Colorimetria | Baixo custo operacional Facilidade de uso Possibilidade de análise quantitativa e qualitativa | Incapacidade de ser utilizada para substâncias que não possuem cor Limitação em medir concentrações muito elevadas Possibilidade de erros decorrentes de uma fonte de luz instável | Dispensável | LETTIERI et al., 2023 SHRESTHA; KUMARI; KRISHNA, 2023 |
| Termogravimetria | Medição direta das alterações de massa Determinação da estabilidade térmica | Impreciso para determinar diferentes compostos em misturas Técnica destrutiva Requer condições de vácuo ou atmosferas controladas | Dispensável | MERWE; STRYDOM, 2004 GOMES et al., 2018 MENCZEL; PRIME, 2009 |

Fonte: elaborado pelos autores (2024).

5.6 QUIMIOMETRIA NA ANÁLISE DE DADOS

Observou-se que a aplicação de métodos quimiométricos na análise de creatina por espectroscopia NIR é crucial para lidar com a complexidade dos dados multivariados gerados. Estes métodos, como PCA e análise discriminante linear, possibilitam uma análise precisa e confiável, contribuindo para resultados de alta qualidade. Além disso, foi constatado que esses métodos são amplamente aplicáveis em diversas áreas, como biologia, química de alimentos e química forense, evidenciando sua versatilidade. No contexto específico da análise de creatina, a integração de métodos quimiométricos aumenta a eficiência, reduz custos e melhora a segurança nas operações laboratoriais. Essas constatações reforçam a importância dos métodos quimiométricos na análise de compostos por espectroscopia NIR, destacando sua relevância para a obtenção de resultados confiáveis e de alta qualidade (VONČINA, 2009).

5.7 PROPOSIÇÃO DE EXPERIMENTO PARA ANÁLISE DE CREATINA EM PÓ POR ESPECTROSCOPIA NIR

5.7.1 Objetivo do Experimento

O objetivo deste experimento proposto é investigar a eficácia da espectroscopia NIR na análise de amostras comerciais de creatina com o uso da quimiometria no tratamento dos dados obtidos.

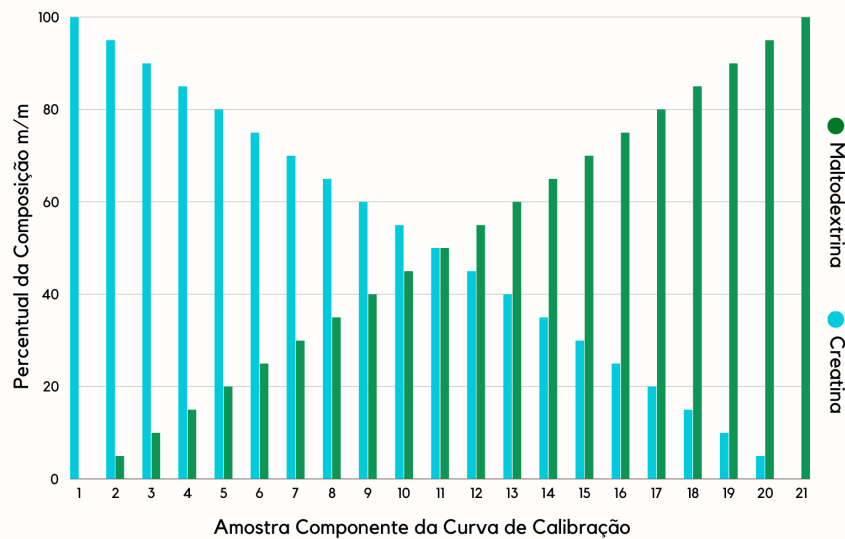
5.7.2 Materiais e Métodos

Inicialmente deve-se construir uma curva de calibração do equipamento, por isso é necessária a aquisição de creatina P.A. (pura para análise) e maltodextrina P.A. de qualidade elevada e procedência confiável. Em seguida, proceder-se-á à diluição da creatina na maltodextrina que se baseará em um valor maior que 15 padrões feitos por Blanco, 2008, para obtenção de uma curva de calibração mais precisa, seguindo uma escala de percentuais mássicos. Essa etapa resultará na formação de 21 amostras com diferentes proporções de creatina em relação à maltodextrina que irá caminhar desde a concentração pura de creatina (10:0) até a concentração pura de maltodextrina (0:10) de 5 em 5% de pureza.

Para a realização deste experimento, devem ser adquiridas amostras comerciais de creatina em pó de diferentes marcas disponíveis no mercado, garantindo uma diversidade representativa. Será indispensável um espectrômetro NIR de alta resolução para a obtenção dos espectros de absorção das amostras. As análises serão conduzidas em recipientes apropriados, preferencialmente em cubetas de quartzo, que são adequadas para a espectroscopia NIR devido à sua transparência em toda a faixa de comprimentos de onda utilizados. Além disso, será indispensável o uso de um computador equipado com um software de quimiometria, como o MatLab, para a construção da curva de calibração, para a interpretação dos espectros e para a aplicação de métodos estatísticos para análise dos dados.

O gráfico de diluição é visualmente expresso conforme a Figura 16.

Figura 16 – Gráfico representativo dos percentuais das diluições dos padrões para a construção da curva de calibração.



Fonte: elaborado pelos autores (2024).

5.7.3 Procedimento Experimental

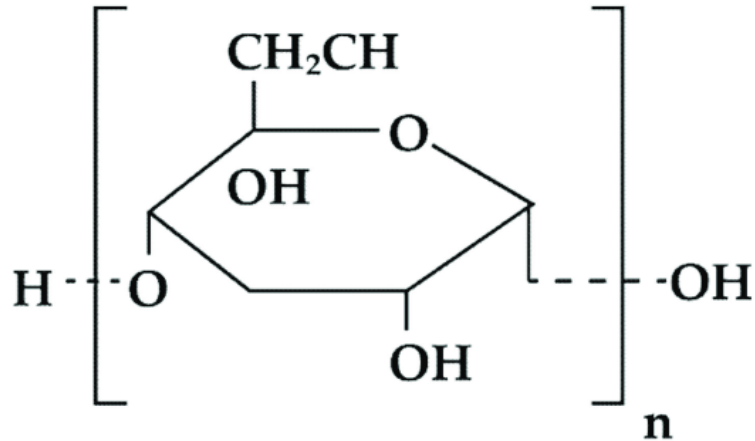
Para que haja precisão na construção da curva de calibração, primeiramente é necessário garantir que a umidade absorvida pela creatina anidra devido ao seu comportamento higroscópico seja completamente removida e não interfira na obtenção do espectro. A creatina P.A. deve ser aquecida em uma estufa a 125 °C, aumentando 10 °C a cada minuto até atingir tal temperatura, a fim de garantir a completa remoção da água de acordo com DASH; MO; PYNE, 2002.

Após esse processo, as amostras destinadas à elaboração da curva de calibração devem ser diluídas com a maltodextrina e homogeneizadas cuidadosamente para assegurar uma distribuição uniforme do material no recipiente que será realizada a leitura.

A seleção da maltodextrina como padrão de contaminação na análise da creatina decorre da sua presença frequente em produtos comerciais de creatina, sendo um dos carboidratos mais comuns adicionados às formulações. A ANVISA não especifica a maltodextrina, mas sim "carboidratos", o que inclui a maltodextrina. Essa escolha se fundamenta na representatividade da maltodextrina como um dos principais carboidratos encontrados em suplementos alimentares, facilitando sua utilização como referência

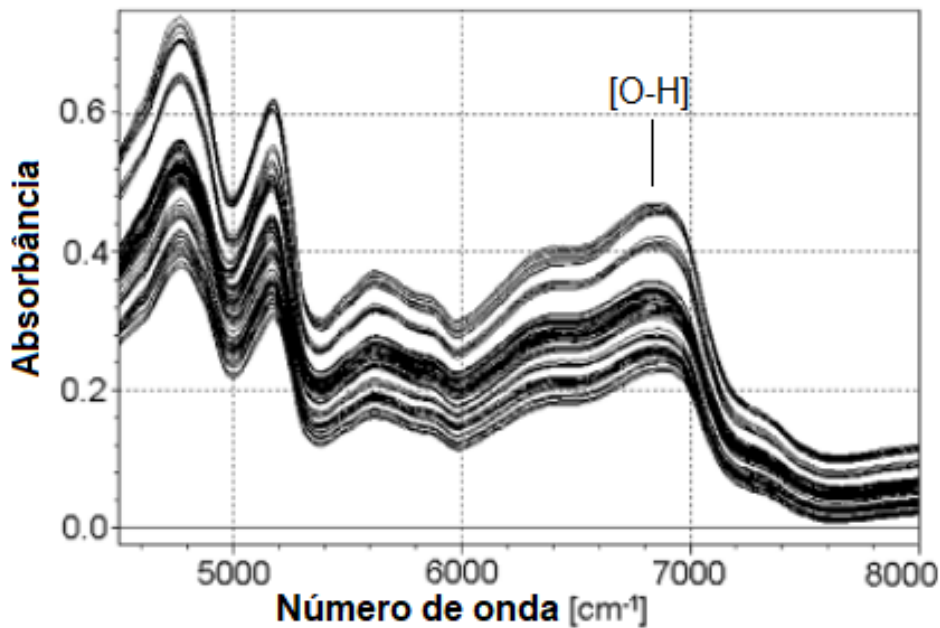
em estudos de análise de qualidade. A maltodextrina possui espectro característico no infravermelho próximo, uma vez que sua molécula apresenta grupos O-H e C-H, como pode ser evidenciado através das Figuras 17 e 18 a seguir.

Figura 17 – Estrutura Química Maltodextrina.



Fonte: elaborado pelos autores (2024).

Figura 18 – Espectro NIR da Maltodextrina



Fonte: adaptado de STÄRKE (2004).

Após a leitura de cada amostra utilizando o espectrômetro NIR, os espectros obtidos serão processados com o auxílio de software de quimiometria, como o MatLab. Este processamento incluirá a correção de linha de base, normalização e outros pré-processamentos necessários para garantir a qualidade dos dados. Em seguida, os espectros tratados serão utilizados para a construção de uma curva de calibração,

baseada nas concentrações conhecidas das amostras padrão. Esta curva de calibração será fundamental para correlacionar os dados espectrais com as concentrações de creatina nas amostras comerciais.

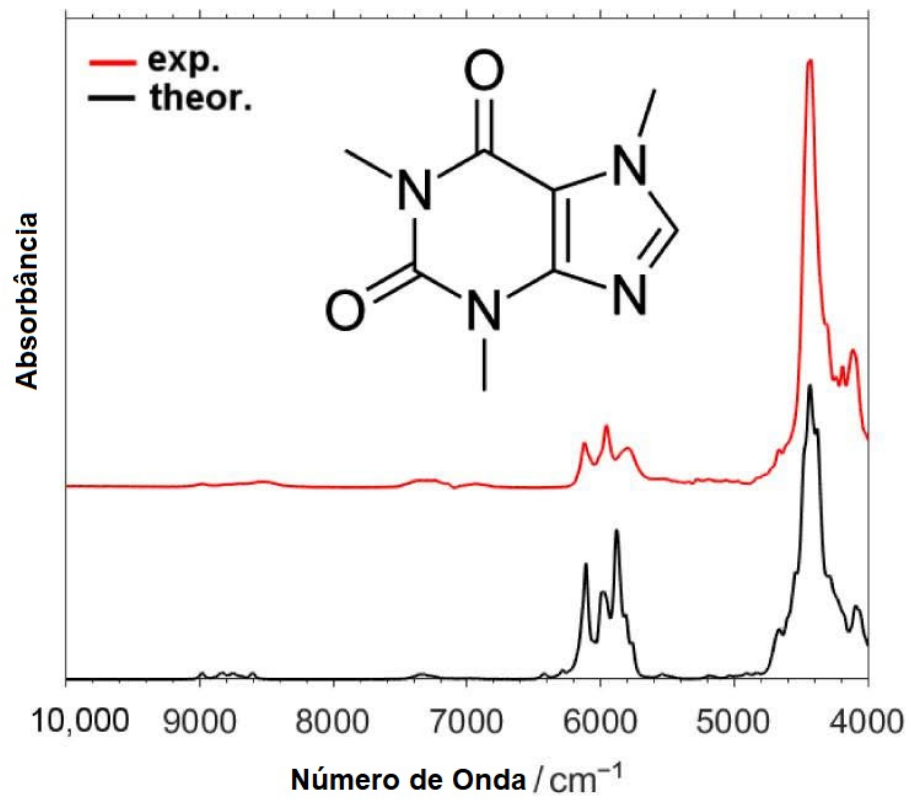
Após a construção das curvas de calibração, será iniciada a etapa de análise das amostras comerciais de creatina. Cada amostra, proveniente de diferentes fabricantes, deverá ser acondicionada em recipientes adequados para análise por NIR. Para garantir a confiabilidade dos dados, a construção da curva de calibração com os padrões e cada análise de creatina comercial será realizada no mínimo em triplicata, de acordo com a qualidade dos resultados de Blanco, 2008.

Finalmente, com a obtenção dos espectros das amostras comerciais de creatina, os dados serão tratados utilizando métodos quimiométricos para otimizar os resultados e eliminar aqueles com desvios inesperados devido a possíveis inobservâncias da metodologia sugerida. O estudo de Krzysztof Wójcicki, "Application of NIR spectroscopy for sport supplements identification" utilizou PCA no tratamento dos dados obtidos em suas análises, transformando os dados iniciais obtidos em um conjunto reduzido de dados não correlacionados.

Em seguida, os resultados da análise serão comparados com a curva de calibração construída, permitindo o cálculo quantitativo da concentração de creatina em cada amostra comercial. Dessa forma, será possível quantificar o teor de creatina nas amostras comerciais utilizando a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR).

Para lidar com a possível presença de outros contaminantes comuns nas amostras comerciais, como a cafeína, durante a análise do teor de creatina usando espectroscopia NIR, algumas estratégias podem ser adotadas. A Análise de Componentes Principais (PCA) pode ser utilizada para diferenciar visualmente os componentes presentes nas amostras, permitindo a distinção entre creatina e contaminantes. Os contaminantes potenciais, como a cafeína, possuem bandas características no espectro NIR (GRABSKA *et al.*, 2021), como pode ser visto na Figura 19 a seguir, o que facilita sua identificação posterior. Caso o contaminante seja conhecido, é possível desenvolver um modelo de calibração multivariada que inclua padrões de creatina, cafeína e outros, permitindo a quantificação precisa de cada componente nas amostras comerciais.

Figura 19 – Espectro NIR da Cafeína



Fonte: adaptado de GRABSKA *et al.* (2021).

6 CONCLUSÃO

Associada com dados estatísticos, a revisão integrativa da literatura permitiu identificar as particularidades dos métodos aplicados à análise de creatina, bem como os parâmetros que podem interferir nesses processos. Através deste trabalho, foi possível reunir diferentes estudos que demonstram a viabilidade da utilização do espectrofotômetro de infravermelho próximo (NIR) para a quantificação do teor de creatina em amostras comerciais.

Os resultados obtidos indicam que a técnica NIR não só é aplicável como também oferece vantagens, como rapidez e versatilidade, em comparação com métodos tradicionais. Além disso, a revisão bibliográfica realizada mostrou o reduzido número de métodos de quantificação validados utilizando NIR, abrindo perspectivas para futuras pesquisas.

As contribuições deste estudo proporcionam uma base teórica e uma metodologia prática que pode ser adotada em ambientes laboratoriais. As constatações de eficácia do NIR na análise de creatina sugerem que esta técnica pode ser expandida para outras aplicações, potencialmente melhorando a eficiência e precisão das análises bioquímicas.

Através das informações analisadas, mediante ao método de revisão integrativa da literatura disponível, recomenda-se a continuidade das pesquisas para explorar ainda mais as capacidades do NIR, especialmente em contextos de análise de teor de substâncias e na interferência de parâmetros específicos. Em suma, este trabalho não só evidencia uma abordagem analítica como também visa incentivar a inovação e a melhoria contínua nas técnicas de quantificação de substâncias

REFERÊNCIAS

- ABIDI, N. **FTIR Microspectroscopy**. [S.l.]: Springer, 2021.
- ALI, A. H. High-performance liquid chromatography (hplc): a review. **Ann. Adv. Chem**, v. 6, p. 010–020, 2022.
- ALIMENTOS, G.-G. de *et al.* Suplementos alimentares: perguntas e respostas. 2021.
- ALONSO, M. R.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, B. Evolution of the use of sports supplements. **PharmaNutrition**, Elsevier, v. 14, p. 100239, 2020.
- AMINLARI, M.; VASEGHI, T. A new colorimetric method for determination of creatine phosphokinase. **Analytical biochemistry**, Elsevier, v. 164, n. 2, p. 397–404, 1987.
- ANDRES, S. *et al.* Creatine and creatine forms intended for sports nutrition. **Molecular nutrition & food research**, Wiley Online Library, v. 61, n. 6, p. 1600772, 2017.
- BEĆ, K. B.; GRABSKA, J.; HUCK, C. W. Miniaturized nir spectroscopy in food analysis and quality control: Promises, challenges, and perspectives. **Foods**, MDPI, v. 11, n. 10, p. 1465, 2022.
- BEEKS, A. O. **Creatine Assay for Use on Bench Top Chemistry Analyzer: Quick Analysis of Creatine in Human Serum Samples**. [S.l.]: Harvard University, 2016.
- BERWEGER, S.; RASCHKE, M. B. Signal limitations in tip-enhanced raman scattering: the challenge to become a routine analytical technique. **Analytical and bioanalytical chemistry**, Springer, v. 396, p. 115–123, 2010.
- BLANCO, M.; CRUZ, J.; BAUTISTA, M. Development of a univariate calibration model for pharmaceutical analysis based on nir spectra. **Analytical and bioanalytical chemistry**, Springer, v. 392, p. 1372, 2008.
- BRUICE, P. Y. **Organic chemistry**. [S.l.]: Pearson, 2017.
- BURNS; A, D.; W, C. E. **Handbook of near-infrared analysis**. [S.l.]: CRC press, 2007.
- CACCAMO, M. T.; MAGAZÙ, S. Stabilization effects induced by trehalose on creatine aqueous solutions investigated by infrared spectroscopy. **Molecules**, MDPI, v. 27, n. 19, p. 6310, 2022.
- CARTIGNY, B. *et al.* 1h nmr urine analysis as an effective tool to detect creatine supplementation. **Journal of analytical toxicology**, Oxford University Press, v. 26, n. 6, p. 355–359, 2002.
- CIURCZAK, E. W.; IGNE, B. **Pharmaceutical and medical applications of near-infrared spectroscopy**. [S.l.]: CRC Press, 2014.
- CORUJO, M. P. *et al.* Reduction of background fluorescence from impurities in protein samples for raman spectroscopy. **Journal of Spectroscopy**, Wiley Online Library, v. 2022, n. 1, p. 1928091, 2022.
- DASH, A. K.; MO, Y.; PYNE, A. Solid-state properties of creatine monohydrate. **Journal of pharmaceutical sciences**, Elsevier, v. 91, n. 3, p. 708–718, 2002.

- DOU, X. *et al.* Quantitative analysis of metabolites in urine using a highly precise, compact near-infrared raman spectrometer. **Vibrational spectroscopy**, Elsevier, v. 13, n. 1, p. 83–89, 1996.
- DULINSKA, J. *et al.* Synchrotron radiation fourier-transform infrared and raman microspectroscopy study showing an increased frequency of creatine inclusions in the rat hippocampal formation following pilocarpine-induced seizures. **Analytical and bioanalytical chemistry**, Springer, v. 402, p. 2267–2274, 2012.
- EMWAS, A.-H. M. The strengths and weaknesses of nmr spectroscopy and mass spectrometry with particular focus on metabolomics research. **Metabonomics: Methods and protocols**, Springer, p. 161–193, 2015.
- FABIAN, H.; MÄNTELE, W. Infrared spectroscopy of proteins. **Handbook of vibrational spectroscopy**, John Wiley & Sons, Ltd Chichester, UK, 2006.
- FALLER, K. M. *et al.* 1 h-mr spectroscopy for analysis of cardiac lipid and creatine metabolism. **Heart failure reviews**, Springer, v. 18, p. 657–668, 2013.
- FEIZI, A. *et al.* Control of the quality of creatine sports supplements using a validated lc method with uv detection. **Talanta Open**, Elsevier, v. 6, p. 100157, 2022.
- FERNANDEZ-FERNANDEZ, M. *et al.* Simultaneous determination of creatinine and creatine in human serum by double-spike isotope dilution liquid chromatography–tandem mass spectrometry (lc-ms/ms) and gas chromatography–mass spectrometry (gc-ms). **Analytical chemistry**, ACS Publications, v. 87, n. 7, p. 3755–3763, 2015.
- FORBES, S. C. *et al.* Creatine supplementation and endurance performance: surges and sprints to win the race. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, Taylor & Francis, v. 20, n. 1, p. 2204071, 2023.
- GAO, T. *et al.* Research progress and development of near-infrared phosphors. **Materials**, MDPI, v. 16, n. 8, p. 3145, 2023.
- GOMES, J. *et al.* Monitoring and control of bioethanol production from lignocellulosic biomass. In: **Waste biorefinery**. [S.l.]: Elsevier, 2018. p. 727–749.
- GRABSKA, J. *et al.* Anharmonic dft study of near-infrared spectra of caffeine: Vibrational analysis of the second overtones and ternary combinations. **Molecules**, MDPI, v. 26, n. 17, p. 5212, 2021.
- GRIFFITHS, P. R. Fourier transform infrared spectrometry. **Science**, American Association for the Advancement of Science, v. 222, n. 4621, p. 297–302, 1983.
- GUALANO, B. *et al.* Effects of creatine supplementation on strength and muscle hypertrophy: current concepts. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, SciELO Brasil, v. 16, p. 219–223, 2010.
- GÜNTHER, H. **NMR spectroscopy: basic principles, concepts and applications in chemistry**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2013.
- HEZAVE, A. Z. *et al.* Micronization of creatine monohydrate via rapid expansion of supercritical solution (ress). **The Journal of Supercritical Fluids**, Elsevier, v. 55, n. 1, p. 316–324, 2010.

- HOFFMANN, G. **Infrared and Raman Spectroscopy**. [S.l.]: Walter de Gruyter, 2023. v. 1.
- JERÔNIMO *et al.* Detection of creatine in rat muscle by ftir spectroscopy. **Annals of biomedical engineering**, Springer, v. 40, p. 2069–2077, 2012.
- KRAEMER, W. J. *et al.* Physiological basis for creatine supplementation in skeletal muscle and the central nervous system. In: **Nutrition and Enhanced Sports Performance**. [S.l.]: Elsevier, 2019. p. 581–594.
- KREIDER, R. B.; JÄGER, R.; PURPURA, M. Bioavailability, efficacy, safety, and regulatory status of creatine and related compounds: a critical review. **Nutrients**, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 14, n. 5, p. 1035, 2022.
- LEITE, L. L. B. Aplicação da espectroscopia de ressonância magnética nuclear quantitativa de hidrogênio (rmnq-1h) na área farmacêutica e afins. Universidade Federal da Paraíba, 2014.
- LEITE, M. S. R. *et al.* Creatina: Estratégia ergogênica no meio esportivo. uma breve revisão. **Revista de Atenção à Saúde**, v. 13, n. 43, 2015.
- LETTIERI, M. *et al.* Sensing of catecholamine in human urine using a simple colorimetric assay based on direct melanochrome and indolequinone formation. **Sensors**, MDPI, v. 23, n. 8, p. 3971, 2023.
- LI, Q. *et al.* Integrative quantitative and qualitative analysis for the quality evaluation and monitoring of danshen medicines from different sources using hplc-dad and nir combined with chemometrics. **Frontiers in Plant Science**, Frontiers Media SA, v. 13, p. 932855, 2022.
- LÓPEZ-LORENTE, Á. I.; MIZAIKOFF, B. Mid-infrared spectroscopy for protein analysis: potential and challenges. **Analytical and bioanalytical chemistry**, Springer, v. 408, p. 2875–2889, 2016.
- MENCARELLI, M. A. *et al.* Creatine transporter defect diagnosed by proton nmr spectroscopy in males with intellectual disability. **American Journal of Medical Genetics Part A**, Wiley Online Library, v. 155, n. 10, p. 2446–2452, 2011.
- MENCZEL, J. D.; PRIME, R. B. Thermal analysis of polymers. Wiley Online Library, 2009.
- MERWE, E. M. van der; STRYDOM, C. A. Quantitative thermogravimetric analysis of binary mixtures. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, Springer, v. 76, p. 149–156, 2004.
- MOLIN, T. R. D. *et al.* Marco regulatório dos suplementos alimentares e o desafio à saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, SciELO Brasil, v. 53, p. 90, 2019.
- MOLIN, T. R. D. *et al.* Regulatory framework for dietary supplements and the public health challenge. **Revista de Saúde Pública**, SciELO Brasil, v. 53, p. 90, 2019.
- MOREIRA, L. P. *et al.* Detecting creatine excreted in the urine of swimming athletes by means of raman spectroscopy. **Lasers in Medical Science**, Springer, v. 35, n. 2, p. 455–464, 2020.

NOOLEN, L. V. *et al.* Simultaneous determination of guanidinoacetate, creatine and creatinine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: a diagnostic tool for creatine deficiency syndromes in body fluids and a perspective use on cultured fibroblasts. In: **Annales de Biologie Clinique**. [S.l.: s.n.], 2013. v. 71, n. 4, p. 429–437.

OTHMAN, N. Ir spectroscopy in qualitative and quantitative analysis. In: **Infrared Spectroscopy-Perspectives and Applications**. [S.l.]: IntechOpen, 2022.

OTTO, M. **Chemometrics: statistics and computer application in analytical chemistry**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2023.

OZAKI *et al.* **Near-Infrared Spectroscopy: Theory, Spectral Analysis, Instrumentation, and Applications**. [S.l.]: Springer, 2020.

PETERSEN, M.; YU, Z.; LU, X. Application of raman spectroscopic methods in food safety: A review. **Biosensors**, MDPI, v. 11, n. 6, p. 187, 2021.

PICOLLO, M.; ACETO, M.; VITORINO, T. Uv-vis spectroscopy. **Physical sciences reviews**, de Gruyter, v. 4, n. 4, p. 20180008, 2019.

POLO, M. L. **Fundamentos de Cromatografia**. [S.l.]: Dextra Editorial, 2015. v. 1.

PRABHUMIRASHI, L.; KUNTE, S. Solvent effects on electronic absorption spectra of nitrochlorobenzenes, nitrophenols and nitroanilines—i. studies in nonpolar solvents. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy**, Elsevier, v. 42, n. 4, p. 435–441, 1986.

RIU, J. *et al.* Exploring the analytical complexities in insect powder analysis using miniaturized nir spectroscopy. **Foods**, MDPI, v. 11, n. 21, p. 3524, 2022.

ROGALSKI, A. Recent progress in infrared detector technologies. **Infrared Physics & Technology**, Elsevier, v. 54, n. 3, p. 136–154, 2011.

SAKANE, K. K. *et al.* Espectros infravermelhos da creatina. **Revista Univap**, v. 17, n. 29, p. 145–156, 2011.

SAKATA, Y.; SHIRAISHI, S.; OTSUKA, M. Characterization of dehydration behavior of untreated and pulverized creatine monohydrate powders. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Elsevier, v. 35, n. 3-4, p. 185–191, 2004.

SAKATA, Y.; SHIRAISHI, S.; OTSUKA, M. Effect of pulverization on hydration kinetic behaviors of creatine anhydrate powders. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Elsevier, v. 39, n. 4, p. 187–193, 2004.

SALOMONS, G. S.; WYSS, M. **Creatine and creatine kinase in health and disease**. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 2007. v. 46.

SHAW *et al.* Quantitation of protein, creatinine, and urea in urine by near-infrared spectroscopy. **Clinical biochemistry**, Elsevier, v. 29, n. 1, p. 11–19, 1996.

SHIVER, H. The physico-chemistry of creatine and creatinine. **Chemical Reviews**, ACS Publications, v. 6, n. 3, p. 419–444, 1929.

- SHRESTHA; KUMARI, Y.; KRISHNA, S. Fundamentals of colorimetry. IntechOpen, 2023.
- SILVA, A. C. G. D.; JUNIOR, O. M. R. Riscos e benefícios no uso de suplementos nutricionais na atividade física. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 96770–96784, 2020.
- SILVA, L. V.; SOUZA, S. V. C. de. Qualidade de suplementos proteicos: avaliação da composição e rotulagem. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.
- SINGHAL, A. *et al.* Uv-visible spectroscopy: A review on its pharmaceutical and bio-allied sciences applications. **Current Pharmaceutical Analysis**, Bentham Science Publishers, v. 20, n. 3, p. 161–177, 2024.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Instrumental analysis**. [S.l.]: Brooks/Cole, Cengage Learning Belmont, 2007. v. 47.
- SMITH, A. L.; TAN, P. Creatine synthesis: An undergraduate organic chemistry laboratory experiment. **Journal of chemical education**, ACS Publications, v. 83, n. 11, p. 1654, 2006.
- TEIXEIRA, Y. *et al.* Efeitos da suplementação de creatina sobre o desempenho físico: Uma revisão integrativa de literatura. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e982974947–e982974947, 2020.
- VOGEL, A.; MENDHAM, J. **Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis**. [S.l.]: Prentice Hall, 2000. ISBN 9780582226289.
- VONČINA, D. B. Chemometrics in analytical chemistry. **Applied Natural Sciences**, v. 211, 2009.
- WHITTEMORE, R.; KNAFL, K. The integrative review: updated methodology. **Journal of advanced nursing**, Wiley Online Library, v. 52, n. 5, p. 546–553, 2005.
- WÓJCICKI, K. Application of nir spectroscopy for sport supplements identification. **Polish J. Comm. Sci**, v. 3, n. 52, p. 32–37, 2017.
- YOUNG, S.; STRUYS, E.; WOOD, T. Quantification of creatine and guanidinoacetate using gc-ms and lc-ms/ms for the detection of cerebral creatine deficiency syndromes. **Current protocols in human genetics**, Wiley Online Library, v. 54, n. 1, p. 17–3, 2007.
- ZAGO, L. d. S.; SILVA, O. F. C. d.; BUENO, P. H. V. A química dos suplementos alimentares bcaa e creatina. 042, 2023.
- ZAREEF, M. *et al.* An overview on the applications of typical non-linear algorithms coupled with nir spectroscopy in food analysis. **Food Engineering Reviews**, Springer, v. 12, p. 173–190, 2020.