

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

CIÊNCIA DE ALIMENTOS

VALIDAÇÃO INTRALABORATORIAL DE UM MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE SACARINA EM ALIMENTOS DIET

¹Isadora Britto Kopke (IC-UNIRIO); ¹Orlando M. G. de Moraes (orientador).

1 – Departamento de Tecnologia de Alimentos; Escola de Nutrição; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Apoio Financeiro: UNIRIO

Palavras-chave: Sacarina; Método Espectrofotométrico; Validação.

INTRODUÇÃO

Com a crescente preocupação com a saúde e qualidade de vida, as pessoas têm mudado alguns de seus hábitos, exercitam-se mais, comem alimentos mais saudáveis e têm diminuído o consumo de alimentos ricos em açúcar, sal e gordura; aumentando, assim, a demanda pelo consumo de produtos dietéticos, que são produtos destinados a dietas com a ausência de algum componente tal como açúcar, gorduras, carboidratos, sódio, lactose e etc. A eliminação da sacarose nos produtos dietéticos exige que o açúcar seja substituído por aditivos alimentares que possuam características semelhantes, principalmente a doçura. Estes aditivos alimentares podem ser os edulcorantes, mais conhecidos como adoçantes artificiais. Dentre os edulcorantes mais usados pela indústria alimentícia estão: o acesulfame-K, o aspartame, o ciclamato de sódio e a sacarina (ASSUMPÇÃO; MEDEIROS; FATIBELLO-FILHO, 2008), os quais são empregados nos mais diversos produtos. A sacarina foi descoberta acidentalmente por Remsen e Fahlberg, em 1879, durante um estudo sobre a oxidação do o-toluenossulfonamidas (CARLONI-FILHO et al, 2003). Seu poder adoçante é de 300 a 500 vezes superior ao da sacarose e possui um sabor residual amargo.

A sacarina é proibida em alguns países, uma vez que ainda existem dúvidas sobre seu caráter carcinogênico (ASSUMPÇÃO; MEDEIROS; FATIBELLO-FILHO, 2008). Estudos com uma única geração de ratos, camundongos, hamsters e macacos demonstraram que a sacarina não induziu a formação de tumor cancerígeno em nenhum órgão das cobaias usadas nos estudos. Entretanto, estudo envolvendo duas gerações de ratos, tratados com sacarina, indicaram uma grande incidência de tumores cancerígenos na bexiga de ratos machos, da segunda geração (COUNCIL ON SCIENTIFIC AFFAIRS, 1985). Em 1993, o JECFA estabeleceu uma IDA de 5 mg/kg de peso corpóreo por dia para a sacarina e seus sais de sódio, potássio e cálcio. Devido ao estudo citado (COUNCIL ON SCIENTIFIC AFFAIRS, 1985) ter indicado que a sacarina apresenta um potencial carcinogênico em ratos machos, na segunda geração nascida após a exposição intra-útero, existe uma preocupação quanto ao uso desta substância durante a gestação. Apesar de estudos indicarem que não existe associação em humanos entre a exposição à sacarina durante a vida fetal e o surgimento de câncer até os 35 anos de idade, argumenta-se que seria necessário prolongar a observação, uma vez que o câncer de bexiga tende a se manifestar em adultos com mais de 35 anos (NABORS, 1998). Devido às limitadas informações disponíveis quanto aos riscos da sacarina para fetos humanos, o uso deste adoçante deve ser evitado durante a gestação. Em vista aos riscos que o consumo da sacarina apresenta para a saúde do consumidor é de extrema importância o desenvolvimento de procedimentos analíticos simples, de alta seletividade e sensibilidade, capazes de produzir resultados exatos e precisos para a determinação deste edulcorante em produtos alimentícios comercializados a nível nacional. Desta forma essa pesquisa teve por objetivo, estudar e validar intralaboratorialmente o método espectrofotométrico proposto por Ramappa e Nayak (1983) por ser um método simples, econômico e de fácil execução.

OBJETIVO

Tendo em vista os problemas relacionados ao consumo de sacarina e devido à existir no Brasil uma legislação que limita a quantidade dessa substância por tipo de alimento, pretendeu-se com a execução do projeto, validar intralaboratorialmente o método espectrofotométrico proposto por Ramappa e Nayak (1983), ou seja, avaliar a exatidão e a precisão do mesmo, para que posteriormente este possa ser usado na quantificação de sacarina de produtos diet vendidos no mercado nacional.

METODOLOGIA

A pesquisa baseou-se na metodologia descrita por Ramappa e Nayak (1983) e será constituída das seguintes etapas: confirmação do comprimento de onda onde ocorre a absorção máxima, verificação se a relação entre a absorbância e a concentração é linear, estudo da repetibilidade e exatidão do método, das quais, até o momento, foram realizadas as duas primeiras etapas.

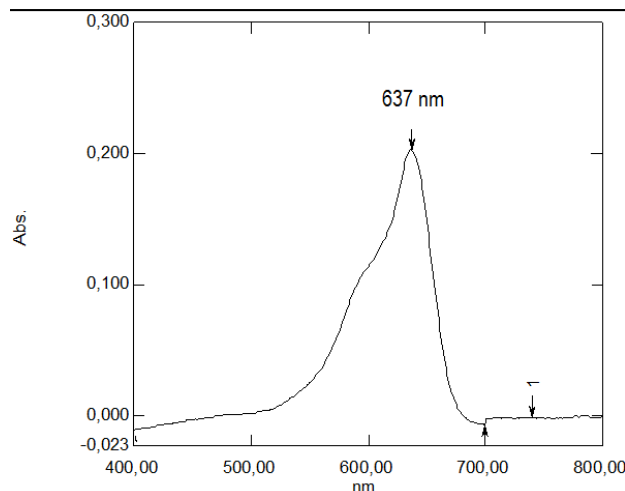
Instrumentos e equipamentos: Espectrofotômetro Shimadzu UV-VIS 2700, Balança analítica EduTec, Centrífuga SL 700 SLAB, Vórtex BiomiXer, Pipetas volumétricas, Balões volumétricos Pyrex® de 100 e de 10 ml, Becheres, Funis de separação Pyrex®, Tubos falcon de 35 mL com tampa rosqueada.

Reagentes e soluções: Sacarina sódica Supelco 4-7839, Azure B Sigma A4043-5G, Ácido cítrico Sigma C-0759, Dissódio ortohidrogenofosfato Vetec cod.129, Clorofórmio OmniSolv CX1059-6, Sulfato de sódio anidro Vetec Cód. 121.

Para confirmar o comprimento de onda no qual ocorre a absorbância máxima, foi feita uma varredura entre 400 e 800 nanômetros, usando o espectrofotômetro Shimadzu, tendo sido encontrado que a mesma ocorre à 637 nanômetros, como pode ser visto no Gráfico 1:

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Gráfico 1 – No gráfico comprimento de onda x absorvância é evidenciado que o comprimento de onda no qual ocorre a absorvância máxima é 637 nanômetros



Em seguida, foi verificada a existência de linearidade entre a concentração de sacarina e a absorvância. Nessa etapa seguiu-se exatamente a marcha analítica apresentada por Ramappa e Nayak(1983) descrita a seguir: Aliquotas da solução padrão contendo de 20 à 680µg de sacarina foram transferidas para um funil de separação ao qual foi adicionado 5 ml do tampão obtido pela mistura de dissódio ortohidrogenofosfato e ácido cítrico (pH=5,0), 2ml da solução 0,05% de azure B e água destilada para completar 10 ml. Após homogeneização, adicionou-se 9 ml de clorofórmio e agitou-se por cerca de 2 minutos. Após 1 minuto de descanso a camada de clorofórmio foi transferida para um balão volumétrico de 10 ml que teve seu volume completado com clorofórmio. O extrato foi seco pela adição ao mesmo de 0,5g de sulfato de sódio anidro e a absorvância foi lida à 637 nanômetros.

RESULTADOS

Foi verificado que o comprimento de onda onde ocorre absorvância máxima é 637 nanômetros (gráfico 1), e não 685 como apresentado por Ramappa e Nayak(1983). Na verificação da linearidade entre absorvância e concentração de sacarina obteve-se, na primeira curva analítica determinada, um r igual à 0,9023. Refazendo-se novamente a curva analítica, obteve-se um r igual à 0,971, que como o primeiro caracteriza uma baixa correlação entre a absorvância e a concentração de sacarina. Em virtude ao exposto determinou-se experimentalmente mais quatro curvas de calibração que comparadas com as duas primeiras permitiram concluir através do coeficiente de variação calculado, para o conjunto de absorvâncias lidas para uma mesma concentração de sacarina, que ocorre uma variação muito grande entre as leituras obtidas, como pode ser visto no quadro 1.

Quadro1 – Absorvâncias medidas versus concentração de sacarina, desvios padrão e coeficientes de variação calculados para cada conjunto de absorvâncias obtidas para o traçado de cada curva analítica

[SACARINA]	ABSORVÂNCIAS LIDAS								
µg/10ml	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	CURVA 4	CURVA 5	CURVA 6	MÉDIA	DP	CV %
10	0,031	0,181	0,2	0,043	0,073	0,089	0,103	0,071	69,2
20	0,296	0,192	0,215	0,08	0,179	0,208	0,195	0,070	35,7
30	0,199	0,199	0,231	0,366	0,298	0,281	0,262	0,065	24,9
40	0,33	0,227	0,241	0,313	0,443	0,346	0,317	0,078	24,8
50	0,387	0,231	0,263	0,387	0,594	0,394	0,376	0,128	34,0
60	0,472	0,237	0,274	0,514	0,709	0,488	0,449	0,173	38,5
a	0,0249	0,169	0,1849	-0,0385	-0,0743	0,0392			
b	0,00745	0,00121	0,0015	0,00921	0,01306	0,00748			
r	0,9023	0,971	0,9966	0,9322	0,9984	0,9913			

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

CONCLUSÃO

O fato de ter sido determinado que há uma grande diferença entre o comprimento de onda onde ocorre a absorbância máxima descrita pelos autores (685nm) e aquele determinado nesta pesquisa (637 nm) denotam que o artigo apresentado não foi profundamente avaliado pelos revisores do periódico. Os diferentes r obtidos, todos eles indicando uma baixa correlação entre absorbância e concentração de sacarina bem como as diferenças relativamente elevadas entre os valores de a e b obtidos para cada curva traçada indicam tratar-se de um método pouco confiável.

REFERÊNCIAS

- Assumpção, M. H. M.T.; Medeiros R.A; Madi A. Fatibello-Filho O. Desenvolvimento de um procedimento biamprométrico para determinação de sacarina em produtos dietéticos. *Química nova*, São Paulo. v.31, n.7, p.1743-1746. 2008.
- Carlioni-Filho, J.; Santini, A. O.; Nasser, A. L. M.; Pezza, H.R.; Oliveira, J.E.; Melios, C. B.; Pezza, L.; Potentiometric determination of saccharin in commercial artificial sweeteners using a silver electrode. *Food chemistry*, São Paulo. V.8, p.297-301.2003.
- Council on Scientific Affairs. Saccharin: review of safety issues. *Journal of the American Medical Association*. V. 254, n. 18, p. 2622-2624. 1985.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). *Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants*. Geneva. 1993.
- Nabors, L.O. Saccharin and aspartame: are they safe to consume during pregnancy?. *The Journal of Reproductive Medicine*. V.33, n. 8, p102. 1988.
- Ramappa, P.G.; Nayak, A.N. Rapid Spectrophotometric Determination of Saccharin in Soft Drinks and Pharmaceuticals Using Azure B as Reagent. *Analyst*. V. 108, p. 966-970. 1983.