

## DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO BIAMPEROMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE SACARINA EM PRODUTOS DIETÉTICOS

Mônica H. M. T. Assumpção, Roberta Antigo Medeiros, Alexandro Madi e Orlando Fatibello-Filho\*

Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, CP 676, 13560-970 São Carlos - SP, Brasil

Recebido em 10/1/08; aceito em 9/5/08; publicado na web em 3/10/08

DEVELOPMENT OF A BIAMPEROMETRIC PROCEDURE FOR THE DETERMINATION OF SACCHARIN IN DIETARY PRODUCTS. In this work was developed a method for the determination of saccharin in dietary products by a biampereometric titration, using two silver electrodes as working electrodes and silver nitrate as titrant. It were used products as juices (light) and sweeteners with saccharin in concentrations ranged from  $8.73 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  to  $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , and the results were in close agreement with those data found using a HPLC method at a confidence level of 95%. The main advantages of the proposed method are its simplicity, rapid and low cost.

Keywords: biampereometry; dietary products; saccharin.

### 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 do consumo de produtos dietéticos, produtos destinados a dietas com a ausência de algum componente, como sacarose, gordura, sódio, 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 artificiais mais empregados pela indústria alimentícia estão acesulfame-K, aspartame, ciclamato de sódio e sacarina, os quais são empregados nos mais diversos produtos, como pudins, adoçantes de mesa, refrigerantes, gelatinas, sorvetes e, também, em medicamentos para encobrir ou mascarar as características organolépticas dos fármacos e em produtos de higiene bucal, para diminuir a incidência de cárie, visto que não serve como alimento para as bactérias da boca.<sup>1</sup>

A sacarina (o-benzóico sulfimida,  $\text{C}_6\text{H}_4\text{COSO}_2\text{NH}$ ) (Figura 1) foi descoberta acidentalmente por Remsen e Fahlberg, em 1879, durante um estudo sobre a oxidação do o-toluenossulfonamidas.<sup>2</sup> Seu poder adoçante é de 300 a 500 vezes superior ao da sacarose e possui um sabor residual amargo. Em 1984 foi estabelecido um valor de ingestão diária aceitável, que é de 2,5 mg/kg de peso corpóreo do consumidor.

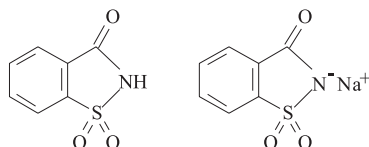


Figura 1. Estrutura da sacarina ácida e da sacarina sódica

A sacarina é proibida em alguns países, uma vez que ainda existem dúvidas sobre seu caráter carcinogênico,<sup>1</sup> sendo de extrema

importância o desenvolvimento de procedimentos analíticos simples, de alta seletividade e sensibilidade para a determinação deste edulcorante em produtos alimentícios do mercado nacional.

Há relatos na literatura diversos métodos para a determinação de sacarina, tais como gravimétrico,<sup>3</sup> potenciométrico,<sup>4,5</sup> espectrofotométrico no UV e Vis,<sup>6,7</sup> fluorimétrico,<sup>8</sup> polarográfico,<sup>9,10</sup> cromatográfico (cromatografia líquida de alta eficiência, CLAE),<sup>11-13</sup> eletroforese capilar,<sup>14</sup> análise por injeção em fluxo,<sup>15</sup> entre outros.<sup>1,2</sup> No entanto, muitos destes métodos demandam tempo elevado de análise, são laboriosos e/ou de alto custo.

A biampereometria oferece maiores vantagens frente aos procedimentos citados acima, entre elas a simplicidade e o menor custo, uma vez que utiliza uma fonte de potencial selecionável e múltiplos eletrodos de baixo custo. Pode-se, ainda, trabalhar na presença de altas concentrações de eletrólitos concomitantes, o que não é comum nas titulações condutométricas. Ademais, este método não necessita de pré-separação de substâncias interferentes.<sup>16</sup> As vantagens desse método sobre a análise polarográfica são que a substância a ser determinada não necessita ser eletroativa, uma vez que a corrente de difusão poderá ser produzida pelo titulante e/ou por algum produto da reação do analito com o reagente titulante e, também, esta técnica é menos dependente das características do capilar (no caso de eletrodo de mercúrio gotejante), do eletrólito suporte e da temperatura, desde que esta não varie apreciavelmente durante a titulação. Além destas vantagens, estas titulações são mais precisas que a análise polarográfica, uma vez que as variáveis envolvidas são menos críticas e cada titulação envolve a medição de valores individuais da corrente de difusão.

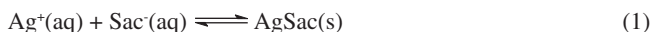
A titulação biampereométrica<sup>17</sup> foi descrita pela primeira vez por Salomon, denominando-a de “titulação galvanométrica”, sendo empregado o sistema cloreto de potássio e nitrato de prata, como titulante e titulado, respectivamente. Nos primeiros experimentos foi aplicada uma diferença de potencial de 0,1 V entre dois eletrodos de prata mergulhados em uma solução contendo cloreto. Salomon observou que ocorria um aumento brusco da corrente em um galvanômetro, obtendo um ponto final bem definido. Nernst e Merriam, em 1905, usaram dois eletrodos de hidrogênio para acompanhar titulações ácido-base. A titulação com dois eletrodos indicadores ressurgiu, em 1926, com Foulk e Bawden<sup>18</sup> que demonstraram sua utilidade em titulações com o sistema iodo/tiosulfato, utilizando um par de eletrodos de platina

\*e-mail: bello@dq.ufscar.br

idênticos. Na titulação de iodo com tiosulfato ocorrem quedas abruptas de corrente próximas ao ponto final e após este permanece nula. Diante deste comportamento, Foulk e Bawden designaram a técnica como *dead-stop end point*. Em uma situação oposta, se o tiosulfato é titulado com solução de iodo, um fluxo contínuo de corrente apreciável não ocorrerá até que o ponto final seja atingido. Sendo assim, a técnica foi designada como *kick-off end point*. Somente 20 anos após os trabalhos de Foulk e Bawden<sup>18</sup> essa técnica foi mais utilizada. O fator principal deste desenvolvimento foi a demonstração de Wernimont e Hopkinson de que a técnica *dead-stop end point* poderia ser usada na determinação da água em meio não aquoso pelo método de Karl Fischer.

Vários termos têm sido propostos, entre eles “titulação amperométrica com dois eletrodos indicadores” sugerido por Kolthoff<sup>19</sup> em 1954 e *biamperometric end point*, sugerida em 1955 por Jantti. A IUPAC, entretanto, recomenda o uso do termo titulação biamperométrica para esta técnica desde 1959. Segundo Fatibello-Filho *et al.*,<sup>20</sup> em uma titulação amperométrica são empregados um eletrodo indicador polarizável (platina, prata, gotejante ou de filme de mercúrio, de carbono, entre outros) e um eletrodo de referência. Já na titulação biamperométrica, o eletrodo de referência é substituído por outro eletrodo polarizável (*eg.* platina, prata). Desta maneira, neste tipo de titulação com dois eletrodos indicadores, a corrente é monitorada entre os dois eletrodos, enquanto uma diferença de potencial é aplicada constantemente entre ambos. A corrente que flui pela célula, durante uma titulação, é monitorada em função do volume do titulante adicionado. Dependendo do potencial aplicado e das características voltamétricas das substâncias envolvidas, a corrente será proporcional às concentrações da substância que está sendo titulada, do excesso de titulante, de um dos produtos de reação ou, muitas vezes, de duas destas concentrações. A técnica biamperométrica é utilizada geralmente em titulações baseadas em reações de óxido-redução, sendo que a curva obtida é um gráfico de corrente-limite corrigida em função do volume de titulante.

No caso do presente trabalho, à medida que é adicionada a solução do titulante, nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), há precipitação do ânion sacarinato ( $\text{Sac}^-$ ) com formação do sal correspondente de prata(I) ( $\text{AgSac}(s)$ ) até atingir o ponto de equivalência (Equação 1). Com o primeiro excesso do titulante, as seguintes reações eletroquímicas são então processadas no cátodo (Equação 2) e no ânodo (Equação 3):



obtendo-se assim o volume de equivalência.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material e equipamentos

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água deionizada. Soluções padrão de sacarinato de sódio (Sigma)  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  foram preparadas diariamente. O titulante utilizado foi o nitrato de prata (Sigma)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

As titulações biamperométricas foram realizadas em uma célula de vidro de compartimento único, com camisa para circulação de água via banho termostático e capacidade para 50 mL com tampa de PVC contendo 2 orifícios, sendo um deles para fixar os 2 eletrodos de prata e o outro, a ponta da microbureta eletrônica. A temperatura da célula foi mantida em  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  e a titulação realizada sob agitação constante. Os eletrodos utilizados foram confeccionados no próprio laboratório, onde se soldou um pequeno pedaço de fio de prata (com 0,2 cm de diâmetro e 2 cm de comprimento) em um fio de cobre, sendo o fio

resultante fixado em um tubo de vidro de 10 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro e ao tubo de vidro fixou-se um pino do tipo banana para fazer o contato elétrico. A fonte de potencial controlável, também construída no laboratório, possui dois reguladores de voltagem em série, sendo um deles com ajuste grosso e outro fino, de maior precisão. A fonte é de baixa amperagem, sendo de aproximadamente 300 mA e com uma faixa de potencial relativamente grande, variando de 0 a 10 V. A fonte foi idealizada para funcionar na rede 110 V sendo que o primeiro potenciômetro de 10 k linear, trabalhando em conjunto com o TIP32 constitui o ajuste grosso e o segundo, também de 10 k linear, trabalhando em conjunto com BC33 e TIP31C constituem o ajuste fino. O esquema da fonte bem como o sistema utilizado para a titulação biamperométrica são mostrados nas Figuras 2 e 3.

Para a adição de nitrato de prata (titulante), utilizou-se uma microbureta modelo Schott Gerate T 80/20. Para agitar a solução contida na célula biamperométrica (inicialmente sacarinato de sódio e posterior adição de nitrato de prata) foi utilizado um agitador magnético Fisatom e para monitorar a corrente e o potencial utilizaram-se dois multímetros de marcas Minipa ET – 1001 e YFE YF – 2000, ambos obtidos no comércio de São Carlos.

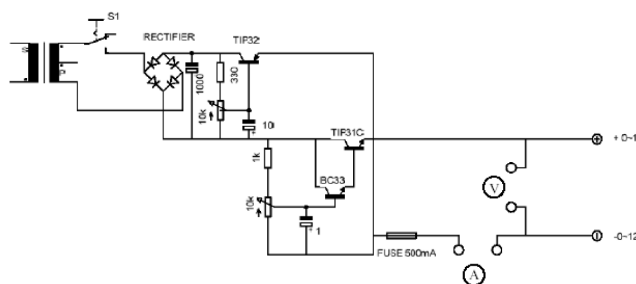


Figura 2. Esquema da fonte utilizada na titulação biamperométrica



Figura 3. Sistema para uma titulação biamperométrica

### Estudo dos potenciais e das concentrações

Primeiramente realizou-se um estudo do potencial e das concentrações do titulante e do titulado a serem utilizados. Estudou-se o efeito dos potenciais aplicados no intervalo de 0,01 a 0,100 V, mantendo-se a concentração da solução de nitrato de prata em  $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  e a de sacarinato de sódio em  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . A seguir, foram preparadas novas soluções diminuindo-se as concentrações iniciais pela metade, obtendo-se então uma solução de nitrato de prata numa concentração de  $2,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  e solução de sacarinato de sódio na concentração de  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Com essas concentrações, os potenciais foram variados novamente, iniciando-se em 0,010 V e chegando-se a 0,100 V.

Para construção dos gráficos das titulações biamprométricas lançou-se em gráfico a corrente corrigida,  $I_c$  vs. volume do titulante, como mostrado na Equação 5.

$$I_c = \frac{I_{\text{exp}} (V_o + V_{\text{ad}})}{V_o} \quad (5)$$

sendo,  $I_{\text{exp}}$  = corrente obtida experimentalmente;  $V_o$  = volume inicial de sacarinato de sódio;  $V_{\text{ad}}$  = volume adicionado de nitrato de prata.

### Titulação biamprométrica de produtos dietéticos

Foram analisadas três amostras de produtos dietéticos obtidos no comércio local de São Carlos: adoçante Finn líquido, suco de uva Santal light e suco de abacaxi Frisco light.

Transferiram-se 2,5 mL do adoçante líquido para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água destilada, obtendo-se uma solução nominal de sacarinato de sódio de 0,01 mol L<sup>-1</sup>. As demais amostras foram tituladas diretamente ou preparadas de acordo com as informações contidas nos respectivos rótulos.

Para análise do adoçante líquido ou soluções dos sucos de uva e de abacaxi foram utilizadas alíquotas de 20 mL e solução de nitrato de prata 0,05 mol L<sup>-1</sup>, 2,20 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> e 4,36 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>, respectivamente.

### Estudo da adição e recuperação do edulcorante sacarina em produtos comerciais

O estudo da adição e recuperação de sacarina foi realizado com as três amostras comerciais: adoçante Finn líquido, suco de abacaxi Frisco light e suco de uva Santal light.

No estudo da adição e recuperação de sacarina em adoçante Finn líquido foram feitas as determinações em quadruplicata. Uma alíquota de 0,5 mL da amostra de adoçante líquido foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL, o volume do balão foi completado com água destilada, transferido para célula de vidro e titulado com solução de nitrato de prata 0,05 mol L<sup>-1</sup>. O mesmo procedimento foi repetido com a adição de 0,10; 0,25 e 0,50 mL de solução padrão de sacarinato de sódio 0,40 mol L<sup>-1</sup>, separadamente, em balão volumétrico de 25 mL contendo 0,5 mL da amostra líquida, sendo o volume completado com água destilada.

No estudo da adição e recuperação de sacarina no suco de uva, transferiram-se 20 mL da amostra para um balão volumétrico de 25 mL sendo o volume do balão completado com água destilada. O mesmo procedimento foi repetido com a transferência de 20,0 mL da amostra para um balão volumétrico de 25 mL e adição em separado de 0,10; 0,25 e 0,50 mL de solução padrão de sacarinato de sódio 9,24 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, seguido de adição de água destilada até a marca do balão. Alíquotas de 25 mL de soluções da amostra e da amostra com a adição de cada solução padrão foram então tituladas em quadruplicata com solução de nitrato de prata 2,20 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>.

No estudo de adição e recuperação de sacarina em suco de abacaxi, procedeu-se de forma idêntica ao estudo realizado com o suco de uva.

### Análise do edulcorante por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)<sup>21</sup>

A verificação da exatidão do método proposto foi avaliada usando-se o método CLAE de referência. Foi utilizado um cromatógrafo LC-10AT Shimadzu com detector de UV-VIS, modelo SPD-M10AVP e coluna Shim-Pack CLC-ODS (60 x 150 mm, 5 µm). A fase móvel utilizada foi acetônitrila/tampão fosfato (pH = 4), na proporção

14/86 v/v, com vazão de 0,8 mL por minuto, um volume de injeção de 30 µL sendo que a sacarina foi monitorada no comprimento de onda de 192 nm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estudo de potenciais e das concentrações

Com o sacarinato de sódio e o nitrato de prata nas concentrações de 1,0 x 10<sup>-2</sup> e 5,0 x 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup>, respectivamente, não foi possível identificar o ponto final da titulação biamprométrica do sacarinato em potencial abaixo de 0,060 V, uma vez que não foi possível localizar a variação da inclinação das curvas de  $I_c$  vs.  $V_{\text{AgNO}_3}$  (ponto de inflexão). No entanto, em potenciais acima de 0,060 V obtiveram-se curvas biamprométricas satisfatórias.

Com o sacarinato de sódio e o nitrato de prata nas concentrações de 2,5 x 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> e 5,0 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, respectivamente, não foi possível identificar a presença de sacarina em um potencial abaixo de 0,060 V, no entanto, em potenciais iguais ou acima de 0,070 V obtiveram-se curvas biamprométricas com melhor definição.

A Figura 4 mostra uma curva da titulação biamprométrica de 20,0 mL de adoçante Finn com nitrato de prata 0,05 mol L<sup>-1</sup> a 25 °C e potencial aplicado de 0,090 V entre os eletrodos de prata.

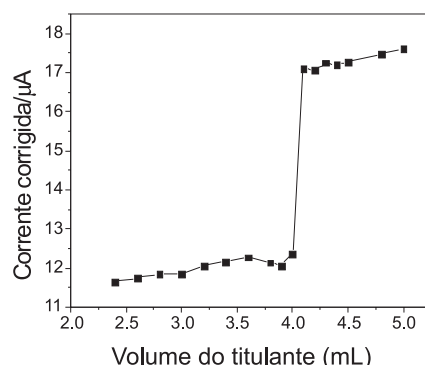


Figura 4. Curva biamprométrica da titulação de 20,0 mL do adoçante Finn com nitrato de prata 0,05 mol L<sup>-1</sup> a 25 °C e potencial aplicado de 0,090 V entre os eletrodos de prata

Tabela 1. Estudo da recuperação da sacarina em produtos dietéticos comerciais

Amostras	Sacarina/mg		Recuperação/%
	Adicionado	Encontrado	
Adoçante Finn® líquido	49,2	48,2	98,0
	61,6	61,6	100,0
	82,0	83,1	101,3
Suco de abacaxi Frisco® light	0,40	0,38	95,0
	0,45	0,44	97,8
	0,54	0,54	100,0
Suco de uva Santal® light	2,0	1,9	95,0
	2,3	2,2	95,6
	2,8	2,7	96,4

n = 5

### Estudo da adição e recuperação do edulcorante sacarina em produtos comerciais

Os resultados obtidos no estudo da adição e recuperação da sacarina em produtos comerciais foram considerados satisfatórios uma

**Tabela 2.** Resultados obtidos na determinação de sacarina em produtos dietéticos analisados pelos métodos CLAE e biamprométrico

Amostras	Valor Rotulado	Sacarina/(mg/100 mL)		Erro Relativo (1) %	Erro Relativo (2) %
		CLAE <sup>21</sup>	Método Biamp.		
Adoçante Finn® Líquido <sup>a</sup>	8300	(8,3±0,2)×10 <sup>3</sup>	(8,4±0,3)×10 <sup>3</sup>	1,2	1,2
Suco Frisco® light <sup>b</sup>	1,6	1,6±0,2	1,7±0,1	6,2	6,2
Suco Santal® light <sup>c</sup>	9,0	9,3±0,4	9,2±0,3	2,2	-1,1

Erro relativo (1) % = 100 × (valor biamp. – valor rotulado)/valor rotulado. Erro relativo (2) % = 100 × (valor biamp. – valor CLAE<sup>21</sup>)/valor CLAE<sup>21</sup>. <sup>a</sup> Composição: cada mL contém: sacarina sódica, ciclamato, água, sorbitol, ácido benzóico e metilparabeno. <sup>b</sup> Composição: malto-dextrina, polpa de fruta, ácido ascórbico, ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato tricálcio, aromatizante, aspartame, ciclamato, acesulfame-K, sacarina, dióxido de titânio, goma xantana, carboximetilcelulose sódica, amarelo crepúsculo e tartrazina. <sup>c</sup> Composição: água, suco concentrado de uva, pectina, ácido cítrico, aroma natural, sacarina e acesulfame-K.

vez que a recuperação variou entre 95,0 e 101,3%, como apresentado na Tabela 1, indicando que a matriz de cada amostra não interferiu na determinação de sacarina empregando-se o procedimento analítico desenvolvido.

### Aplicação analítica

A Tabela 2 apresenta as concentrações de sacarina determinadas empregando-se os métodos cromatográfico e biamprométrico, bem como os erros relativos entre eles. Os resultados obtidos na determinação da sacarina nas amostras analisadas empregando-se o procedimento proposto foram concordantes com os resultados obtidos pelo método cromatográfico de referência bem como os valores rotulados, com erros relativos aceitáveis.

Para melhor comparação entre os métodos biamprométrico e CLAE, fez-se o teste t pareado. O valor de  $t_{exp}$  (1,48) foi inferior ao  $t_{crítico}$  (4,303) para 2 graus de liberdade, mostrando assim concordância entre os métodos a um nível de confiança de 95%.

### CONCLUSÕES

O método desenvolvido neste trabalho mostra a viabilidade do emprego da reação da sacarina com nitrato de prata para determinação rotineira deste edulcorante em produtos dietéticos comerciais. Com a titulação biamprométrica é possível analisar diferentes tipos de amostras com um baixo custo, uma vez que a maioria dos equipamentos utilizados, tais como a fonte de potencial controlável, os eletrodos de prata metálica, a célula biamprométrica e os multímetros, podem ser desenvolvidos no próprio laboratório e/ou encontrados facilmente no mercado local. Ademais, o procedimento analítico desenvolvido apresenta boa sensibilidade e repetibilidade.

### AGRADECIMENTOS

Pelos recursos financeiros recebidos do CNPq, CAPES e FAPESP, e bolsa de iniciação científica de M. H. M. T. Assumpção (processo nº 05/03980-0).

### REFERÊNCIAS

- Fatibello-Filho, O.; Vieira, I. C.; Gouveia, S. T.; Calafatti, S. A.; Guarita-Santos, A. M.; *Quim. Nova* **1996**, *19*, 248.
- Carlioni-Filho, J.; Santini, A. O.; Nasser, A. L. M.; Pezza, H. R.; Oliveira, J. E.; Melios, C. B.; Pezza, L.; *Food Chem.* **2003**, *83*, 297.
- Kattab, F. I.; *Anal. Lett.* **1983**, *16*, 1121.
- Elmosallamy, M. A. F.; Ghoneim, M. M.; Killa, H. M. A.; Saber, A. L.; *Microchim. Acta* **2005**, *151*, 109.
- Alfaya, R. V. S.; Alfaya, A. A. S.; Gushikem, Y.; Rath, S.; *Anal. Lett.* **2000**, *33*, 2859.
- Los-Weinert, P.; Pezza, H. R.; de Oliveira, J. E.; Pezza, L.; *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *452*, 7788.
- Agrawal, O.; Das, J. V.; Gupta, V. K.; *J. Indian Chem. Soc.* **1999**, *76*, 61.
- Wengi, L.; *Chemical Abstracts* **1996**, *125*, 140772c.
- Hannisdal, A.; Schroeder, K. H.; *Electroanalysis* **1993**, *5*, 183.
- Geissler, M.; Schiffel, B.; Kuhnhardt, C.; *Anal. Chim. Acta* **1981**, *124*, 237.
- Yano, M.; Shiba, S.; Yokohama, Y.; Tagawa, Y.; Masui, T.; Ozawa, T.; Warabi, Y.; Saga, J.; Yodo, N.; *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health* **1992**, *38*, 196.
- Di Pietra, A. M.; Cavrini, V.; Bonazzi, D.; Benfenati, L.; *Chromatographia* **1990**, *30*, 215.
- Leuenberger, R.; Gauch, R.; Baumgartner, E.; *J. Chromatogr.* **1979**, *173*, 343.
- Windahl, K. L.; Trenery, V. C.; Ward, C. M.; *Food Chem.* **1999**, *65*, 263.
- Fatibello-Filho, O.; Nóbrega, J. A.; Guarita-Santos, A. J. M.; *Talanta* **1994**, *41*, 731.
- Fatibello-Filho, O.; Capelato, M. D.; Calafatti, S. A.; *Analyst* **1995**, *120*, 2407.
- Stock, J. T.; *Amperometric titrations*, John Wiley & Sons: New York, 1975, p. 45.
- Foulk, C. W.; Bawden, A. T.; *J. Am. Chem. Soc.* **1926**, *48*, 2045.
- Kolthoff, I. M.; *Anal. Chem.* **1954**, *26*, 1685.
- Fatibello-Filho, O.; Vieira, I. C.; Calafatti, S. A.; *Anais Assoc. Bras. Quim.* **1996**, *45*, 131.
- Demiralay, E. C.; Özkan, G.; Guzel-Seydim, Z.; *Chromatographia* **2006**, *63*, 91.