

Avaliação de métodos químicos para determinação de açúcares redutores e totais em alimentos

SILVA, R.N.¹; MONTEIRO, V.N.² & ASQUIERI, E.R.³

1. Aluno de Iniciação Científica da Faculdade de Farmácia UFG.

2. Mestranda em Biologia ICB/UFG.

3. Prof. Titular, Doutor em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Farmácia/ UFG.

1-INTRODUÇÃO

Os monossacarídeos, glicose e frutose são açúcares redutores que possuem grupo aldeídico livre, ou potencialmente livre, ou grupo cetônico, capazes de se oxidarem em soluções alcalinas. Por outro lado, os açúcares que não possuem essa característica são os dissacarídeos, como a sacarose, lactose, etc. A análise desses açúcares é uma atividade rotineira nos laboratórios de análises de alimentos das indústrias alimentícias, na qual pode-se observar uma certa carência, no que se refere às técnicas padronizadas para as análises.

Desta forma, com o propósito de suprir esta necessidade, o trabalho foi realizado, avaliando-se três das mais utilizadas técnicas na determinação de açúcares redutores (A.R) e açúcares totais (A.T), utilizando métodos, como ADNS, Somogyi-Nelson e Fehling, dentre elas, as duas primeiras são espectrofotométricas, e a última, titulométrica.

A matéria prima inicial utilizada foi o mel, onde foi possível observar a eficiência dos métodos, e como também possíveis adulterações (presença elevada de sacarose).

Os açúcares encontrados em maior quantidade neste produto são a glicose e a frutose, cerca de 85% de um total de 95% de açúcares (Alamani, 1994), onde a frutose se apresenta em uma maior concentração, cerca de 38%, e a glicose com 31% (Louveaux, 1985). Por outro lado, a concentração de sacarose não pode ultrapassar 6% do total, segundo Franco (1986), caracterizando, assim, uma forma de adulteração.

Diversos reativos são utilizados para demonstrar a presença de grupos redutores em açúcares (Vilela, 1973). De fato, os monossacarídeos podem ser oxidados por agentes oxidantes relativamente suaves tais como os íons férrico (Fe^{3+}) e cúprico (Cu^{2+}), onde o carbono do grupo carbonila é oxidado a ácido carboxílico. Tais reações não são observadas nos dissacarídeos, no caso a sacarose, pois estes não apresentam grupos redutores livres (Lehninger, 1995).

Para se estimar o teor de açúcares redutores e açúcares totais, tanto no mel, quanto em outros alimentos, existem vários métodos químicos não seletivos que fornecem resultados, com elevado grau de confiabilidade, quando utilizados corretamente, após eliminação de interferentes (Parazzi, 1987). Outros métodos mais seletivos vêm sendo estudados e aplicados em menor escala, assim como a cromatografia de HPLC, utilizada por Cano (1996), na análise de padrões de carboidratos presentes no mel, a qual foi classificada em monossacarídeos, dissacarídeos, trissacarídeos e oligossacarídeos, e as determinações enzimáticas pesquisadas por Shore & Sargent (1981) e Frost (1984).

Os métodos químicos atualmente conhecidos para a análise de açúcares redutores são, na sua maioria, fundamentados na titulometria (Lane & Eynon, 1934), bem como na espectrofotometria ADNS (Miller, 1959), Somogyi (1952) e Nelson (1944). Os resultados obtidos da aplicação de métodos não seletivos, oxiredutimétricos, onde todas as substâncias com poder redutor são determinadas, são diretamente influenciados pela quantidade de interferentes presentes na amostra (Parazzi, 1987).

Alguns trabalhos de comparação de diferentes métodos de determinação de açúcares vêm sendo conduzidos por vários autores, como Schaffler (1976) e Schaffler & Smith (1978), que obtiveram para a metodologia de Lane & Eynon (1934) valores superestimados para sacarose e concluem que esta metodologia inclui muitos não açúcares que, após a hidrólise ácida, tornam-se redutores do licor de Fehling.

Existem, também, por outro lado, outros métodos que não se fundamentam, nem na titulometria nem na espectrofotometria. Este é o caso da cromatografia de TLC, a qual fundamenta-se na separação de compostos, com posterior análise do mesmo. Assim, caracteriza-se também a polarimetria, a qual baseia-se no desvio da luz polarizada por substâncias opticamente ativas. Por fim, pode-se destacar também métodos do tipo complexométricos e enzimáticos, onde este pode vir a superar os demais, devido à sua grande especificidade (Peter Karlson, 1970).

2-MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Tecnologia e Bioquímica de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, onde foram utilizadas 15 amostras de méis procedentes de diferentes cidades do Estado de Goiás: Rio Verde (Rvd), Goiânia (Gyn), Quirinópolis (Qui), Inhumas (Inh), Jataí (Jat), Santa Isabel (SIsa), Bom Jesus (BJes), Anápolis (Ana), Iporá (Ipo), Caldazinha (Cld), Porangatú (Por), Uruaçu (Uru), Itumbiara (Itu), Cristalina (Cris) e Mineiros (Min).

2.1-Método do ácido 3-5-dinitrossalicílico

A química da reação do ADNS com açúcares redutores está elucidada em parte; o ADNS é reduzido para ácido 3-amino-5-nitrossalicílico, enquanto que, no caso mais simples, o grupamento aldeído parece ser oxidado a grupamento carboxila. Entretanto, a equivalência entre o ácido aminonitrossalicílico produzido e a quantidade do açúcar não é exata e, diferentes açúcares produzem diferente intensidade na cor desenvolvida. Isso sugere que a química da reação deva ser mais complexa que a apresentada, podendo estar relacionada com as reações de decomposição de açúcares em solução alcalina. (Miller, 1959).

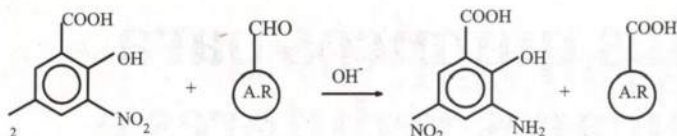


Figura 1- O ácido dinitrossalisílico é reduzido pelo açúcar redutor em meio alcalino A.R = Açúcar redutor genérico

2.2 Método Lane-Eynon (Fehling)

Açúcares com grupamento livre quando aquecidos em solução alcalina transformam-se facilmente em enedióis, substâncias que sofrem ação de agentes oxidantes. No método o cobre do reativo de Fehling é reduzido a óxido cuproso. (Lane & Eynon, 1934).

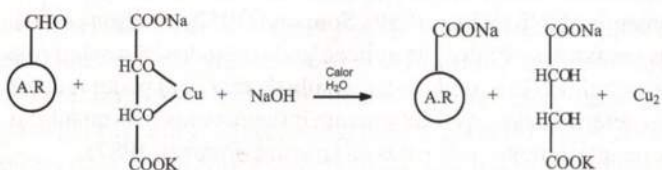


Figura 2 - O sal de sódio que se forma com produto primário da oxidação do A.R sofre posterior oxidação na seqüência da reação.

2.3 Método de Somogyi-Nelson

Os glicídeos redutores aquecidos em meio alcalino, transformam-se em enedióis que reduzem o íon cúprico presentes a cuproso. O óxido cuproso assim formado, reduz a reação arsênio-molibdídico a óxido de molibdênio de coloração azul cuja intensidade de cor é proporcional a quantidade de açúcares redutores existentes na amostra (Somogyi, 1952 e Nelson, 1944).

2.4 OBrixs

Constitui um método físico para medir a quantidade de sólidos solúveis presentes em uma amostra. Baseia-se em um sistema de graduação de aparelhos especialmente para ser utilizado na indústria açucareira, mais precisamente na análise de açúcares em geral que estejam em solução (Spencer, 1967).

3-RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras foram analisadas nas mesmas condições analíticas. Com isso, pode-se chegar a resultados confiáveis, onde a tabela 01 refere-se à quantidade de açúcares redutores e a tabela 02 refere-se à quantidade de açúcares totais presente em cada amostra. A quantidade de sacarose foi obtida, subtraindo-se os dados da tabela 02 pela tabela 01, ou seja, (% de sacarose = A.T - A.R). A tabela 03 mostra os sólidos solúveis, em OBrixs, que no caso do mel reproduz com bastante aproximação os açúcares solúveis.

Tabela 01- % de açúcares redutores (A.R)

AMOSTRAS															
Métodos	RVD	GYN	QUI	INH	JAT	SISA	BJES	ANA	IPO	CLD	MIN	POR	CRIS	ITU	URU
Somogyi	79.34	77.5	79.62	76.57	78.42	80.01	77.5	77.54	70.4	68.31	70.32	77.48	73.44	72.46	74.53
ADNS	86.7	79.98	80.34	73.32	78.9	88.18	83.37	80.7	73.32	78.3	75.3	81.14	77.54	79.44	79.95
Fehling	82.93	75.44	80.28	78.65	82.9	85.47	77.8	79.53	73.84	67.44	80.50	83.69	77.32	78.31	80.3

Tabela 02- % de açúcar total (A.T)

AMOSTRAS															
Métodos	RVD	GYN	QUI	INH	JAT.	SISA	BJES	ANA	IPOR	CLD	MIN	POR	CRIS	ITU	URU
Somogyi	82.11	78.42	79.34	78.42	82.11	80.03	78.42	78.92	69.3	71.56	71.87	78.03	72.9	71.89	75.02
ADNS	88.88	81.19	80.8	77.53	82.7	88.88	85.11	85.68	73.88	81.5	82.91	81.79	77.5	77.5	81.4
Fehling	83.5	75.6	80.36	78.91	82.6	85.93	79.1	83.09	74.01	70.44	84.79	84.48	78.24	78.54	81.43

Tabela 03- OBrix das amostras

AMOSTRAS	° BRIKS
Anápolis (Ana)	81
Bom Jesus (Bjes)	80
Caldazinha (Cld)	81.1
Cristalina (Cris)	80
Goiânia (Gyn)	79.1
Inhumas (Inh)	79.9
Iporá (Ipo)	78.3
Itumbiara (Itu)	84
Jataí (Jat)	81.3
Mineiros (Min)	81.3
Porangatú (Por)	85
Quirinópolis (Qui)	82.2
Rio Verde (Rvd)	83
Santa Isabel (Sisa)	80
Uruaçu (Uru)	79.5

Os resultados obtidos, quando comparados com os OBrixs das amostras, revelaram grande eficiência de alguns métodos. A partir disso, foram traçados gráficos de eficiência para cada análise, onde posteriormente foram comparados e obtidos os resultados finais.

Os gráficos mostram a eficiência para cada amostra, onde se verificou que o método de ADNS se mostrou mais eficiente na determinação de açúcares, ou seja, 53.33% para açúcares redutores e 73.33% para açúcares totais. Em segundo lugar, ficou o método de FEHLING, com 46.66% para açúcares redutores e 26.66% para açúcares totais. Já o método de SOMOGYI & NELSON, revelou-se ineficiente na determinação de açúcares em amostras concentradas, no caso da maioria dos alimentos. Esse

fato se deve à sua sensibilidade, que reside no intervalo de 0 a 180µg de açúcar redutor. Assim, os valores de açúcares encontrados, por este método, em relação aos outros dois (ADNS e Fehling), se devem às inúmeras diluições feitas a fim de ajustar a concentração dentro da sensibilidade de cada método, ocasionando, assim, possíveis perdas de amostra.

Comparando o ADNS e FEHLING, pode-se destacar uma significativa diferença. O FEHLING é um método titulométrico, em que a margem de erro ocasionada por parte do analista é muito grande e o ADNS se configura como sendo mais seguro, dada a sua especificidade de ser um método espectrofotométrico, além de ser mais rápido, favorecendo-se, assim, o uso cotidiano nas indústrias alimentícias. Com respeito ao controle de qualidade do mel consumido, no Estado de Goiás, verificou-se, através da fórmula (% de sacarose = A.T - A.R), que apenas uma amostra superou a concentração aceitável e, mesmo assim, um número não muito significativo e apenas no método de ADNS, ou seja, 7.6% na amostra procedente de Mineiros.

Figura 3- Anápolis

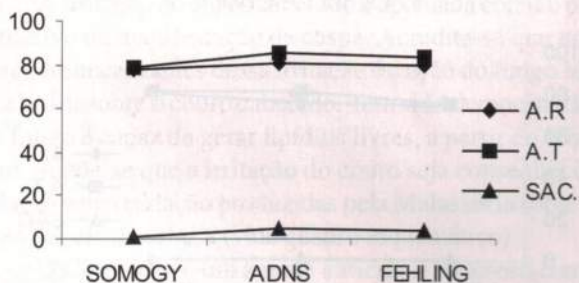


Figura 4- Bom Jesus

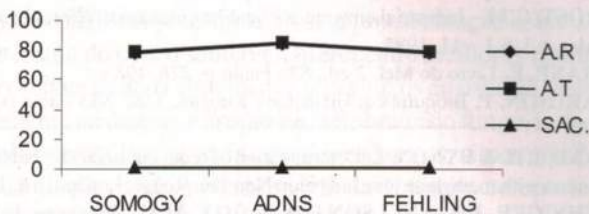


Figura 5- Caldazinha

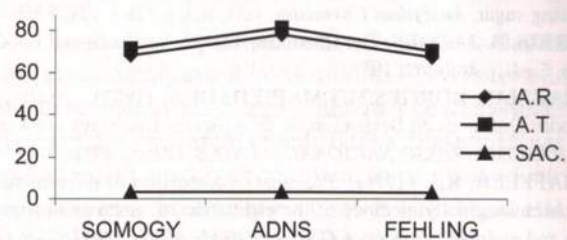


Figura 6-Cristalina

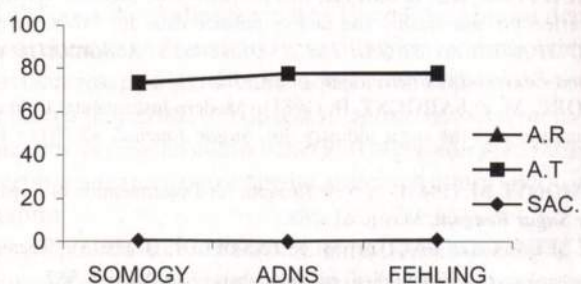


Figura 7- Goiânia

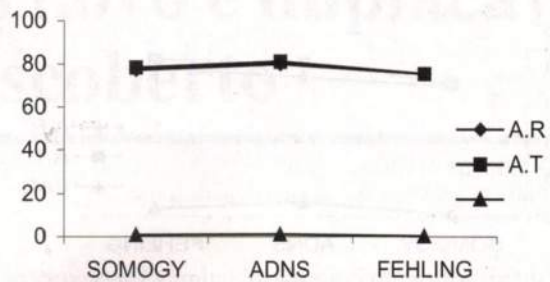


Figura 8- Inhumas

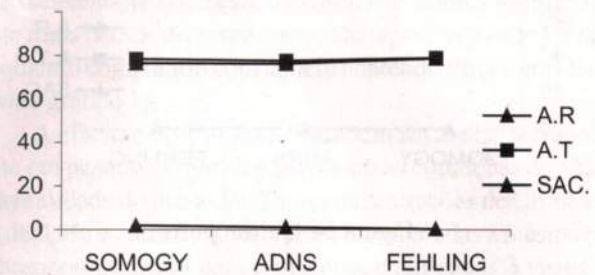


Figura 9- Iporá

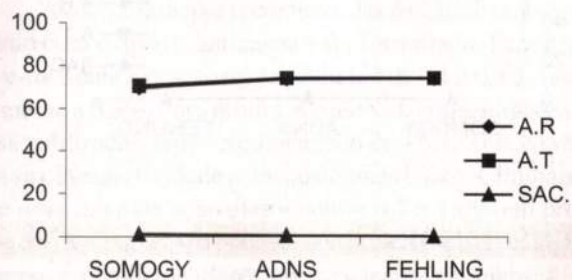


Figura 10- Itumbiara

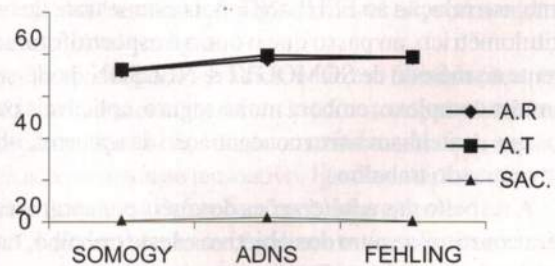


Figura 11- Jataí

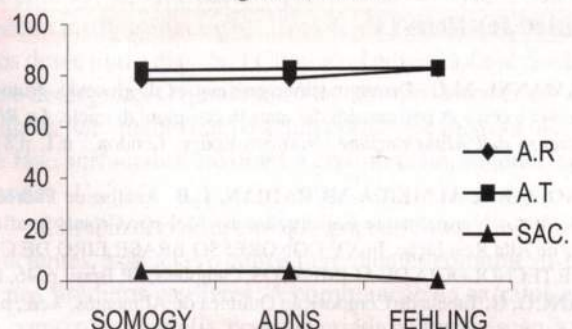


Figura 12- Mineiros

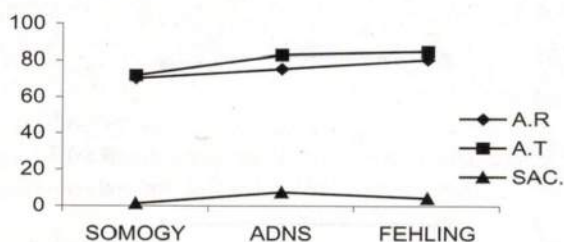


Figura 15- Rio Verde

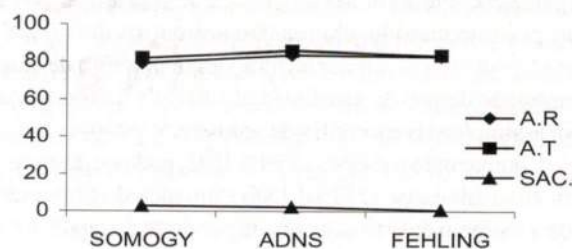


Figura 13- Porangatú

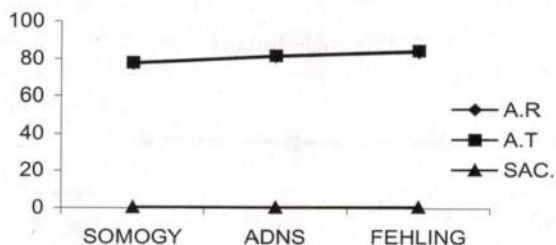


Figura 16- Santa Isabel

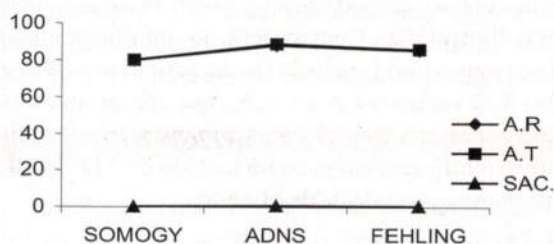


Figura 14- Quirinópolis

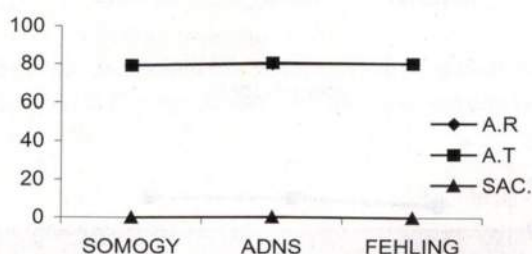
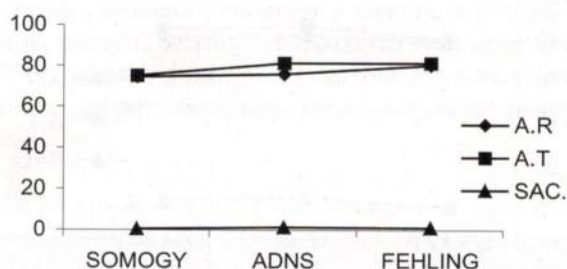


Figura 17- Uruaçu



4-CONCLUSÕES

Nesse contexto, pode-se concluir que, dentre os métodos avaliados, o ADNS se mostrou mais eficiente, na determinação de açúcares, tanto redutores quanto totais, além de ser mais rápido e prático. A margem de erro pelo método de ADNS diminuiu bastante, em relação ao FEHLING, pois este se trata de um método titulométrico, ao passo que o outro é espectrofotométrico. Referente ao método de SOMOGYI & NELSON, pode-se dizer que é muito complexo, embora muito seguro, aplicáveis para alimentos que contenham baixa concentração de açúcares, objetivo de outra parte do trabalho.

A respeito das adulterações dos méis por sacarose, o que também constitui-se num dos objetivos deste trabalho, nada foi detectado, de forma significativa, ou seja, apenas uma amostra ultrapassou o limite tolerável de 6%, sendo o mel goiano, portanto, de ótima qualidade para o consumo.

5-BIBLIOGRAFIA

- ALAMANNI, M.C. Determinazione enzimatica di glucosio, fruttosio e sacarosio e cerca di polisacaridi del mais in campioni di miele. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione*, Normam Rodge, London, n.1, p.81-86, 1994.
- CANO, C.B & ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Análise de Padrões de Carboidratos Normalmente Encontrados no Mel por Cromatografia Líquida de Alta Resolução. In XV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Campinas, SP, Brasil, p. 46, 1996.
- FRANCO, G. Tabela de Composição Química do Alimentos, 7 ed., p.143, 1986.

- FROST, G.M. Industrial enzyme applications industrial. *Biotechnology Wales*. v.3, p.1 - 11, 1984.
- GRANE, E. Livro do Mel, 2 ed., São Paulo p. 226, 1985.
- KARLSON, P. Bioquímica, Guanabara Koogan, 1 ed. São Paulo p.449, 1970.
- LANE, J. H. & EYNON, L. Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator, Normam Rodge, London, p.8, 1934.
- LEHNIGER, L.A. ; NELSON, L.D. & COX, M.M. Princípios de Bioquímica, 2 ed., p. 227-228, 1995.
- LOUVEAUX, J. La Miel. *Cah. Nutr. Diet*, XX, n.1, p.57-70, 1985.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v.31, n.3, p.426 - 428, 1959.
- MORRIS, B. JACOBS. The Chemical Analysis of Foods and Food Products, 3 ed., p.460-462, 1958.
- PARAZZI, C.; BORGES, M.T.M; PIEDEDE, S. (1987). Avaliação de Métodos Químicos de Determinação de Açúcares Redutores em Xaropes. In: 100 CONGRESSO NACIONAL DA STAB. Olinda, PE, p. 8-13.
- SCHAFFLER, K.J. (1976). Preliminary comparison of polarimetric and gas chromatography methods of the estimation of sucrose in sugarcane juice and molasses. In ANN. CONGR. SOUTH AFRICAN SUGAR TECHNOLOGISTS' ASSOCIATION, 52 Mount Edgecombe. Proceedings. P. 220 - 223.
- SCHAFFLER, K.J. & SMITH, L.A. (1978). True sucrose versus pol; the effect on cane quality and factory balance data. In: ANN. CONGR. SOUTH AFRICAN SUGAR TECHNOLOGISTS' ASSOCIATION, 52 Mount Edgecombe. Proceedings. p. 59 - 63.
- SHORE, M. & SARGENT, D. (1981). Modern instrumental techniques of analysis and the sugar industry. *Int. Sugar Journal*. 83(991) : 199 - 205.
- SOMOGYI, M. (1945). A New Reagent for Determination of Sugars. *A new Sugar Reagent*, May p. 61 - 68.
- VILLELA, G.G., BACILA, M. & TASTALDI, H. (1973). Técnicas e Experimentos de Bioquímica, ed. Guanabara, São Paulo p. 552.