

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AÇÚCAR EM ALIMENTOS E BEBIDAS COMERCIAIS

Jarede da Silva Martins¹ Arlindo Inês Teixeira²

^{1,2} IF sudeste MG campus Barbacena

arlindo.teixeira@ifsudestemg.edu.br

1. Introdução

Na natureza são encontrados apenas um pequeno número de dissacarídeos de ocorrência livre. Dentre estes se destaca a sacarose, principal constituinte do açúcar de mesa, sendo um dos mais abundantes produtos naturais conhecidos, formada por uma unidade de glicose e outra de frutose. Trata-se de um açúcar não redutor, altamente solúvel e quimicamente inerte quando em contato com proteínas, pois não forma ligações covalentes com grupamentos amino livres. Além disto, em plantas, serve como fonte de energia e substrato para a síntese da parede celular e outros glicosídeos, como o amido e frutanos. Embora o excesso de sacarose possa algumas vezes se acumular nas folhas, esse dissacarídeo se acumula principalmente nos tecidos de reserva, na forma de amido (Stitt *et al.*, 1989).

A sacarose, além de aumentar o sabor adocicado dos alimentos, atua na fixação de substâncias aromáticas (aldeídos, cetonas e ésteres), contribuindo para a melhoria do aroma dos alimentos. Um aumento do teor de sacarose do grão o torna mais adocicado, melhorando o sabor de todo e qualquer alimento preparado a partir deste. A principal fonte de sacarose no Brasil é a cana-de-açúcar.

Por outro lado, o consumo de açúcar em excesso resulta em cáries dentárias, provocadas pela quebra da sacarose pela bactéria *Streptococcus mutans*, presente na saliva humana, e a outros problemas de saúde, sendo o principal deles a obesidade (Ringsdorf *et al.*, 1976; Ludwig, 1999, Tomita *et al.*, 1999). Desta forma, uma diminuição da quantidade de açúcar ingerido é benéfica para a manutenção da boa saúde, razão pela qual os açúcares contidos em alimentos e bebidas têm sido progressivamente substituídos por adoçantes naturais ou de origem sintética, os quais preservam o sabor doce e não contém glicose na sua composição.

Devido aos problemas relacionados à saúde, torna-se necessário a quantificação deste açúcar nos alimentos, visando a um controle da quantidade de sacarose a ser adicionada e a informar à população a quantidades de açúcar efetivamente presente. Várias metodologias de análise estão disponíveis para a quantificação do teor de

sacarose, baseadas em técnicas cromatográficas, espectroscópicas e refratométricas. No entanto, a maioria destas metodologias exige equipamentos e/ou reagentes de custo elevado, além de mão de obra qualificada. Outras, apesar do custo ser menor, são muito demoradas. Estes fatores inviabilizam a utilização dessas técnicas em pequenas empresas do ramo e também em grupos de pesquisa que atuam na área. Em virtude dessa problemática, este trabalho visa desenvolver uma metodologia baseada na ação combinada da enzima glicose-oxidase, largamente usada em *kits* comerciais para quantificação de glicose, com a invertase, enzima hidrolítica que cliva a ligação glicosídica da sacarose formando frutose e glicose. Essa metodologia permitirá a realização de análises em larga escala a um baixo custo.

Palavras-chaves: sacarose, método enzimático, espectroscopia

Categoria/Área: BIC-Jr --- Ciências exatas e da Terra

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método enzimático/espectrofotométrico de baixo custo para a quantificação do teor de sacarose em alimentos comerciais. Este método está baseado na ação combinada das enzimas Invertase e Glicose-Oxidase e poderá ser utilizado pela indústria de alimentos e por grupos de pesquisa no doseamento deste importante ingrediente, presente em vários alimentos e bebidas consumidos pela população brasileira e mundial. Para a validação dessa nova metodologia, os mesmos alimentos e bebidas serão analisados pelo método Lane-Eynon, com modificações.

3. Materiais e métodos

3.1 Materiais:

- Bureta 25 ml
- Erlenmeyer 250 ml
- Chapa de aquecimento com agitador magnético
- Pipetas 5 ml
- Balão volumétrico 100 ml
- Tubo de ensaio

3.2 Reagentes:

- Solução de Fehling A
- Solução de Fehling B
- Solução de azul de metileno 2 g/l
- Solução de glicose 0,5 %
- Levedura de panificação seca (*Sacharomyces cerevisiae*).
- Solução de Bicarbonato de sódio 0,1 mol/l
- Solução tampão Ácido acético/ Acetato de sódio pH 0,5

3.3 Procedimentos:

3.3.1 Padronização das amostras:

- Dissolveu-se amostras de vários alimentos em um balão de 100 ml (sol. 1:100).
- Fez-se a titulação de 5 ml de Fehling A, 5 ml de Fehling B e 40ml de água com solução 1:100 sob ebulição.
- Após 2 minutos adicionou-se 1 ml de azul de metileno.
- Continuou-se a titulação até o indicador descolorir. Repetiu-se 3 vezes. Anotou-se o volume gasto

3.3.2 Purificação da enzima invertase

- Colocou-se um pequena quantidade de levedura de panificação no tubo de ensaio com 5 ml da solução de bicarbonato de sódio.
- Deixou-se o tubo com a solução em banho-maria por 6 horas a uma temperatura de 30° a 35°C.
- Após o banho-maria, centrifugou-se o material por 10 minutos a 2000 RPM.
- Retirou-se o sobrenadante e foi colocado em diálise em água corrente por 8 horas.
- Feita a extração, armazenou-se a enzima na geladeira com a solução tampão na proporção 1:25.

3.3.2 Hidrólise Enzimática

- Dissolveu-se 5 g da amostra de mel em 25 ml de água deionizada
- Desta solução homogeneizada, transferiu-se 2 ml para um tubo de ensaio juntamente com 2 ml da enzima.

- Colocou-se solução em banho-maria por 1 hora a temperatura de 40°C,
- Após o processo, colocou-se a solução em um balão e completou-se o volume com água.
- Titulou-se a solução de fehling com a solução hidrolizada. Anotou-se os volumes.

3.3.3 Hidrólise ácida

- Dissolveu-se 5 g da amostra em 25 ml de água deionizada.
- Desta solução homogeneizada, transferiu-se 2 ml para um tubo de ensaio, juntamente com 100 microlitros de HCl concentrado.
- Deixou-se em banho-maria por 5 minutos a uma temperatura de 67° a 70°C.
- Após o resfriamento da solução, adicionou-se 160 microlitros de hidróxido de sódio 30% até se atingir ph neutro.
- Transferiu-se a solução para um balão e completou-se o volume com água
- Titulou-se a solução de fehling com a nova solução hidrolisada. Anotou-se o volume.

4. Resultados e Discussão

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 1) podemos perceber que o Guaraná comum em relação à Coca cola comum apresenta uma pequena porcentagem de açúcar redutor. O Suco Tial, mesmo sendo um produto de origem natural, apresentou uma porcentagem de açúcar superior a dos refrigerantes comuns. O guaraná zero realmente não apresenta porcentagem considerável de açúcar, mas já na coca cola zero, observa-se a presença de uma pequena quantidade. O mel tendo em sua maior composição açúcares tem-se como esperado grande porcentagem.

Tabela 1: Determinação de açúcares redutores pelo método Lane – Eynon.

Amostras	% Açúcar redutor
Guaraná Antartica comum	2, 014%
Guaraná Antactica Zero	-
Coca cola comum	6,8%
Coca cola zero	0, 055%
Mel Santa Bárbara	69,66%
Suco Tial	8,40%

Visando testar a eficiência da enzima extraída na hidrólise da sacarose, foi escolhida uma amostra de mel a qual foi submetida a procedimentos de hidrólise usando o extrato enzimático obtido. Para comparação, foi feita também a hidrólise usando a enzima pura (comercial) e a hidrólise ácida do mesmo material. Após a hidrólise, os açúcares redutores presentes foram determinados pelo método Lane – Eynon. A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos. Pode se observar que ambas as hidrólises enzimáticas foram menos eficientes do que a hidrólise ácida na clivagem da sacarose, sendo que a enzima pura foi mais eficiente do que o extrato enzimático de *Sacharomyces cerevisiae*, como era esperado.

Tabela 2: Determinação de açúcares redutores pelo método Lane – Eynon de amostras de mel após diferentes processos de hidrólise.

Amostra	Hidrólise com Extrato enzimático	Hidrólise com enzima pura	Hidrólise ácida
Mel Santa Bárbara	63,75%	66,0%	78,25%

Este resultado indica que são necessários novos testes, incluindo variações de temperatura, pH e concentração da enzima, visando a otimização das condições de hidrólise de forma a se obter valores próximos a 100% de eficiência na clivagem da sacarose. Após isso teremos condições de realizar os testes relativos a segunda parte da análise, que consiste na quantificação da glicose gerada pela hidrólise da sacarose via as reações catalisadas pela combinação das glicose-oxidase e peroxidase.

5. Conclusão

Através dos experimentos realizados pode-se determinar a porcentagem de açúcares redutores nas amostras analisadas com grande eficiência através do método Lane – Eynon. Contudo não se pode obter um bom resultado na quantificação de sacarose utilizando a enzima invertase, uma vez que a hidrólise ácida mostrou-se mais eficiente, indicando a necessidade de novos testes visando otimizar as condições reacionais da hidrólise de forma a obter uma maior eficiência.

6. Referência bibliográfica

1. RINGSDORF, W.; CHERASKIN, E.; RAMSAY R. Sucrose, neutrophilic phagocytosis and resistance to disease. **Dental Survey**, v.52, p.46-48, 1976
2. LUDWIG, D. S. High glycemic index foods, overeating and obesity. **Pediatrics**, v.103, p.26-32, 1999.
3. TOMITA, N.; NADANOVSKY, P.; VIEIRA, A.L.F.; LOPES, E. Preferências por alimentos doces e cárie dentária em pré-escolares. **Revista de Saúde Pública**, v.33, p.35-42, 1999.
4. STITT, M.LILLEY, R. M. GERHERDT, R. HELDT, H. W. Metabolite levels I soecific cells and subcellular compartments of plant leaves. **Methods enzymology**. v. 4.1989.
5. TEIXEIRA, A.I.; RIBEIRO, L.F.; REZENDE, S.T.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Development of a method to quantify sucrose in soybean grains. **Food Chemistry**, v.130, p.1134-1136, 2012.

Agradecimentos: Agradeço primeiramente a Deus e também aos meus pais, ao professor Arlindo que se dispôs a me orientar e a servidoras Flávia e Vanésia pela coorientação neste projeto.

Apoio financeiro: Agradeço ao apoio do CNPq na execução do projeto que foi realizado no IF sudeste MG campus Barbacena.