

## QUANTIFICAÇÃO DO ASPARTAME POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUÇÃO (CLAR) EM PÓS PARA O PREPARO DE SOBREMESAS\*

Rejane W. ABREU\*\*  
Irani R. OLIVEIRA\*\*  
Odair ZENEON\*\*

RIALA6/751

ABREU, R.W.; OLIVEIRA, I.R. & ZENEON, O. - Quantificação de aspartame por cromatografia líquida de alta resolução (CLAR) em pós para o preparo de sobremesas, *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 53 (1/2):77-80, 1993.

**RESUMO:** Foram analisadas para a determinação do aspartame 72 amostras de mistura em pó para o preparo de sobremesas dietéticas, gelatinas, pudins e flans, de vários sabores e marcas, comercializadas pelas indústrias nacionais, utilizando-se o método da cromatografia líquida de alta resolução (CLAR), com grau de recuperação do aspartame entre 96-97%. Todas as amostras analisadas apresentaram teores de aspartame dentro do limite estabelecido pela legislação em vigor, isto é, 75 mg por 100 g do produto a ser consumido.

**DESCRITORES:** alimentos dietéticos, determinação de aspartame; aspartame; cromatografia líquida de alta resolução.

### INTRODUÇÃO

O aspartame, éster metílico do dipeptídeo L-aspartil-L-fenilalanina, é um edulcorante permitido pela legislação brasileira utilizado em vários tipos de alimentos dietéticos, por apresentar poder adoçante de 180 a 200 vezes maior que o da sacarose e por não ocasionar sabor residual amargo<sup>1,4</sup>. Estudos metabólicos têm mostrado que o aspartame é digerido e transformado pelas mesmas vias bioquímicas das proteínas, produzindo valor calórico de 4 kcal/g e funcionando efetivamente como dietético, para adoçar alimentos e bebidas.

A utilização do aspartame em alimentos exige cuidados tecnológicos, pois sob certas condições de umidade, temperatura e pH, a ligação éster é hidrolisada, formando o dicetopiperazina, a aspartilfenilalanina, o aspartato e a fenilalanina, que não têm o sabor doce.

Recentemente, o mercado nacional foi invadido por inúmeros produtos à base de pós para o preparo de sobremesas de gelatina, flans e pudins contendo aspartame, como alternativa para a população de diabéticos e obesos. Com isto, o laboratório de Saúde Pública teve de enfrentar o desafio de estabelecer técnicas analíticas para controlar estes produtos, frente à legislação em vigor<sup>1</sup>.

A determinação do aspartame em alimentos é complexa, tanto pela grande diversificação das formulações como pela dificuldade analítica, devida aos interferentes constituintes do produto. Na literatura, há vários métodos colorimétricos<sup>3, 7</sup>. O método que utiliza ninidrina como reagente para desenvolver cor, sofre interferência de aminoácidos contendo o grupo  $1 : \alpha$  - amino livre<sup>6</sup>. Os únicos métodos considerados mais seletivos para a determinação de aspartame em alimentos, fundamentam-se na cromatografia líquida de alta resolução (CLAR)<sup>2, 5</sup>.

\* Realizado na Seção de Doces e Amiláceos da Divisão de Bromatologia e Química do I.A.L.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz

Os objetivos deste trabalho foram avaliar os teores de aspartame em várias misturas em pó para o preparo de sobremesas dietéticas de gelatina, de pudins e flans, de vários sabores, por cromatografia líquida de alta resolução; verificar, através da detecção do composto químico dicetopiperazina, se a tecnologia de fabricação dos produtos que utilizam o aspartame foi adequada.

## MATERIAIS E MÉTODO

Foram analisadas 72 amostras de produtos dietéticos referentes a pós para o preparo de sobremesas, que tinham em sua composição o edulcorante aspartame, comercializadas por várias indústrias nacionais, assim distribuídas: 40 amostras para o preparo de gelatina, de doze diferentes sabores; 28 para o preparo de pudim, com sete diferentes sabores e quatro para o preparo de flan, com dois sabores distintos.

O aspartame foi quantificado por cromatografia líquida de alta resolução, com cromatógrafo Waters, mod. 510 e 484, equipado com detector ultravioleta e coluna Waters - 10  $\mu$ m Bondapak C-18, 4,6 mm x 25 cm, utilizando as seguintes condições experimentais:

Deteção -  $\mu$ Y, 200 nm  
Fluxo - 2  $\mu$ l'/min.  
Volume - 20  $\mu$ l'

*Fase móvel* - Preparar solução de fosfato de sódio monobásico 0,0125M. Ajustar o pH da solução a 3,5 com ácido fosfórico p.a. Transferir 900 ml desta solução para um balão volumétrico de 1000 ml e adicionar 100 ml de acetonitrilo grau HPLC. Filtrar a solução através de membrana 0,4 nm.

*Solução-padrão de aspartame* - Pesar 140 mg de aspartame p.a. e transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 100 ml com 70 ml de metanol grau HPLC. Dissolver com ultra-som por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 10 ml desta solução para outro balão volumétrico de 100 ml com 70 ml de metanol grau HPLC. Dissolver com ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 10 ml desta solução para outro balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com metanol.

*Preparação da amostra* - Pesar uma quantidade da amostra que contenha cerca 14 mg de aspartame em um erlenmeyer de 125 ml. Adicionar 40 ml de metanol grau HPLC. Agitar por 15 minutos e dissolver com ultra-som pelo mesmo período de tempo. Decantar e transferir o sobrenadante para balão volumétrico de 100 ml. Repetir a operação de extração com metanol, transferir o sobrenadante e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar a solução através de membrana de 0,4 nm.

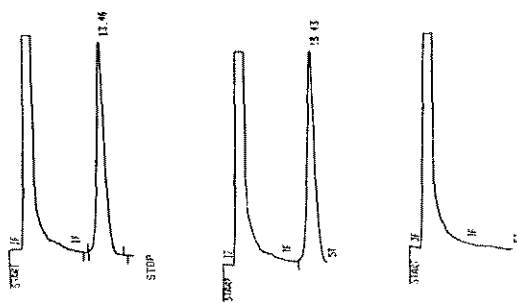
*Preparação da prova em "branco"* - Pesar uma quantidade da amostra em "branco", isto é, a mesma

matriz da amostra sem a presença do edulcorante, equivalente à quantidade da amostra submetida à análise, em um frasco erlenmeyer de 125 ml. Realizar o mesmo procedimento efetuado na preparação da amostra, descrito acima.

*Procedimento analítico* - Injetar 20  $\mu$ l da solução-padrão de aspartame no cromatógrafo ajustado às condições experimentais preestabelecidas. Efetuar esta operação três vezes consecutivas para verificar a reprodutibilidade do aparelho. Injetar 20  $\mu$ l da amostra previamente preparada. Fazer duas injeções de cada uma das amostras e uma do "branco". Injetar a solução-padrão no meio e no final de cada série de amostras, para verificar se o aparelho permanece nas mesmas condições experimentais de trabalho. Através das áreas dos picos registrados nos cromatogramas, calcular o teor de aspartame nas amostras analisadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cromatogramas das amostras analisadas mostraram pico no tempo de retenção médio de 13 minutos, correspondente ao aspartame e não revelaram picos correspondentes ao da dicetopiperazina, que teria um tempo de retenção médio de 7 minutos. Os cromatogramas referentes ao padrão branco e a uma das amostras analisadas, estão representados na figura abaixo.



Padrão de aspartame

Amostra

Branco

O teste de recuperação para o aspartame com o método analítico utilizado, foi de 96-97%, demonstrando sua adequação para a determinação do referido edulcorante em alimentos.

Os resultados dos teores de aspartame nas amostras analisadas estão expressos na tabela. De acordo com estes valores e conforme o modo de preparar a sobremesa, constante na rotulagem de produto, a quantidade de aspartame encontrada estava inferior a 75 mg/100 g do produto a ser consumido, estando, portanto, de acordo com as disposições legais em vigor.

CONCLUSÕES

TABELA

Teor de aspartame em pós para o preparo de sobremesas

Sobremesa	Amostra Sabor	Nº	Valor teórico	Valor experimental
			médio (%)	médio (%)
Gelatina	Morango	4	2,57	2,43
	Limão	6	2,54	2,47
	Framboesa	5	2,54	2,43
	Uva	5	2,54	2,46
	Tangerina	5	2,54	2,42
	Cereja	5	2,56	2,49
	Abacaxi	3	2,57	2,44
	Pêssego	1	2,55	2,52
	Laranja	1	2,50	2,36
	Tutti-frutti	3	2,54	2,44
	Groselha	1	2,50	2,35
Pudim	Salada de frutas	1	2,60	2,59
	Chocolate	6	1,16	1,11
	Morango	4	1,44	1,38
	Baunilha	6	1,38	1,29
	Coco	5	1,43	1,38
	Caramelo	5	1,29	1,21
	Leite condensado	1	0,95	0,94
Leite	1	1,50	1,40	
Flan	Baunilha	2	2,26	2,20
	Chocolate	2	2,26	2,16

O método utilizado para determinação de aspartame mostrou-se adequado para sua determinação em pós para o preparo de sobremesas de várias composições.

Todos os produtos analisados apresentaram quantidade de aspartame de acordo com a legislação em vigor.

Em nenhuma das amostras analisadas foi detectada a presença de dicetopirazina, demonstrando que a tecnologia de fabricação e conservação dos produtos analisados foi adequada.

AGRADECIMENTO

Ao laboratório de controle de qualidade da Nutrasweet - Divisão de Monsanto Ltda. e à sua equipe técnica, pela colaboração na parte experimental do trabalho.

RIALA6/751

ABREU, R.W.; OLIVEIRA, I.R. & ZENEBO, O. - Determination of aspartame in dry mix to prepare desserts. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 53 (1/2):77-80, 1993.

ABSTRACT: To determinate their aspartame contents were analysed 72 samples of dry mix products to prepare dietetic desserts, such as, gelatins, puddings and flans, of several flavors and marks, made by Brazilian industries. The analytical method used was high performance liquid chromatography (HPLC), which showed an average aspartame extraction of 96-97%.

The contents of aspartame in all samples analysed were according to the limits of Brazilian law.

DESCRIPTORS: dietetic foods, aspartame determination: aspartame; high performance liquid chromatography.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos, etc. - Resolução nº 04/88 do Conselho Nacional de Saúde. Diário Oficial, Brasília, 19 de dezembro de 1988. Seção I, pt. I, p. 24716. Aprova a revisão das tabelas I, III, IV e V referente a aditivos intencionais em alimentos.
2. FOX, L.; ANTHONY, G.D. & LAU, E.P.K. - *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 59:1048, 1976.
3. GUVEN, K.C. & OZOL, T. - *Acta Pharm. Turc.* 26:28, 1984. *Anal. Abstr.*, 47:3F14, 1985.
4. HOMLER, B.E. - Aspartame: implications for the food scientist. In: STEGINK, L.D. & FILER, L.J. Jr., (ed.) - *Aspartame: physiology and biochemistry*. New York, Marcel Dekker, Inc., 1984. p. 247-60.
5. ISSAQ, H.L.; WEISS, D.; RIDLON, C.; FOX, S.D. & MUSCHIK, G.M. - *J. Liq. Chromatogr.*, 9:1791, 1986.
6. LAU, O.W.; LUK, S.F. & CHAN, W.M. - Spectrophotometric determination of aspartame in soft drinks with ninhydrin as reagent. *Analyst*. 113:765-68, 1988.
7. OZOL, T. - *Acta Pharm. Turc.* 26:59, 1984. *Anal. Abstr.*, 1985. 47: 4E85.

Recebido para publicação em 07 de outubro de 1993.