

IDENTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ÁCIDOS BENZÓICO, CÍTRICO E LÁCTICO EM REFRIGERANTES, POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA *

Almir José RICCIARDI **
Jacob Fernando FERREIRA **
Nina Turko CARLUCCI **

RIALA6/600

RICCIARDI, A.J.; FERREIRA, J.F. & CARLUCCI, N.T. — Identificação simultânea dos ácidos benzóico, cítrico e láctico em refrigerantes, por cromatografia em camada delgada. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45 (1/2):81-84, 1985.

RESUMO: Foi descrita a metodologia utilizada para detectar os ácidos benzóico, cítrico e láctico em refrigerantes comerciais. A cromatografia em camada delgada foi escolhida por ser um método simples e sensível, quando comparado com outros métodos analíticos.

DESCRIPTORIOS: acidulantes, conservadores em refrigerantes, detecção; refrigerantes, identificação dos ácidos benzóico, cítrico e láctico por cromatografia em camada delgada.

INTRODUÇÃO

Algumas fábricas de refrigerantes estão alternando o uso de acidulante entre os ácidos cítrico e láctico, e empregando o ácido benzóico como conservador. Diversos métodos para identificação por cromatografia destes ácidos foram descritos^{3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14} e por nós testados, encontrando-se, assim, certa dificuldade em uma única análise para uma identificação simultânea dos três ácidos, com Rf bem distinguíveis.

Em 1979, LEVENBERGER et alii⁶ apresentaram um trabalho quantificando a sacarina e os ácidos benzóico e sórbico, por cromatografia líquida de alta resolução, mas, por ser este um método que exige um certo investimento, não foi testado, sendo nossa principal preocupação o desenvolvimento de uma técnica rápida e de baixo custo, o que foi conseguido através da cromatografia em camada delgada.

O método descrito permitiu a extração destes ácidos com acetato de etila e posterior identificação através da cromatografia em camada delgada, utilizando uma mistura de clorofórmio e ácido acético como fase móvel e uma mistura de indicadores como revelador, o que tornou possível a identificação destes

três ácidos nas concentrações comumente empregadas em refrigerantes².

O ácido benzóico pode ser determinado quantitativamente com adaptação deste método ao descrito nos métodos oficiais de análise da AOAC¹.

MATERIAL E MÉTODO

Material

No período de junho de 1982 a janeiro de 1985, foram examinadas noventa amostras de diversos refrigerantes (tabela p. seguinte), encaminhados pelos Centros de Saúde da Coordenadoria de Saúde da Comunidade da Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo, recolhidas nos supermercados e nos distribuidores de bebidas da região de Ribeirão Preto, SP.

Método

Extração: a 50 ml do refrigerante, após a eliminação do gás carbônico, foram adicionados 5 ml de HCl (1 + 3) e 25 ml de acetato de etila. Após agitação, em funil de separação, a camada superior de acetato de etila foi recolhida e concentrada até quase a secura, com aquecimento em banho-maria.

* Realizado no Laboratório I de Ribeirão Preto, SP, do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

TABELA

Identificação dos ácidos benzóico, cítrico, láctico e fosfórico em amostras de refrigerantes analisados pelo Laboratório I de Ribeirão Preto, SP, do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, no período de junho de 1982 a janeiro de 1985

Produto	N.º de amostras examinadas	Aditivos detectados							
		Ácido láctico		Ácido cítrico		Ácido benzóico		Ácido fosfórico	
		Número de amostras	Percentagem de amostras	Número de amostras	Percentagem de amostras	Número de amostras	Percentagem de amostras	Número de amostras	Percentagem de amostras
Refrigerantes de guaraná	25	4	16	20	80	24	96	5	20
Refrigerantes de maçã	13	4	31	9	69	12	92	6	46
Refrigerantes de frutas cítricas (limão, laranja e tangerina)	30	5	17	25	83	21	70	5	17
Refrigerantes de cola	12	0	0	3	25	7	58	12	100
Refrigerantes de "tutti-frutti"	10	3	30	8	80	9	90	0	0
Total	90	16	18	65	72	73	81	28	31

RICCIARDI, A.J.; FERREIRA, J.F. & CARLUCCI, N.T. — Identificação simultânea dos ácidos benzóico, cítrico e láctico em refrigerantes, por cromatografia em camada delgada. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):81-84, 1985.

Cromatografia: em placas de camada delgada, com sílica gel G (STAHL tipo 60), soluções-padrões de ácido benzóico (0,01% p/v), ácido láctico (0,02% p/v) e ácido cítrico (0,03% p/v). Após esse processo, foi desenvolvido o cromatograma, utilizando-se como fase móvel clorofórmio e ácido acético glacial (27 + 3).

Como revelador foi empregada a solução vermelha de metila 0,12 g, verde de bromocresol 0,04 g e álcool etílico até completar 100 ml.

Os ácidos foram revelados como manchas vermelho-róseas sobre fundo roxo-avermelhado, com os seguintes Rf aproximados: ácido cítrico 0,0, ácido láctico 0,5 e ácido benzóico 1,0.

O ácido benzóico pôde ser quantificado adaptando-se este método ao descrito nos métodos oficiais de análise da AOAC¹ com as seguintes modificações: adição de 0,1 ml de extrato diluído com 5 ml de acetato de etila nas cromatoplacas, paralelamente com 0,1 ml de uma solução padrão de ácido benzóico a 0,1%. Desenvolver o cromatograma até uma altura de 10 cm, empregando-se como fase móvel clorofórmio e ácido acético glacial (27 + 3). Secar e raspar dois círculos de 2 cm de diâmetro centrados na linha de frente e perpendiculares aos pontos de aplicação da amostra e do padrão e transferir para tubos de centrifuga. Transferir para outro tubo de centrifuga um círculo com 2 cm de diâmetro, raspado da placa em um local onde não foi desenvolvido o cromatograma, para servir de branco. A cada tubo adicionar 10 ml de álcool etílico e agitar por trinta segundos. Centrifugar até o sobrenadante tornar-se límpido. Decantar o sobrenadante em uma cubeta e ler no espectrofotômetro a 272 nm. Calcular a concentração de ácido benzóico na amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a tabela, dos 90 refrigerantes analisados no período de junho de 1982 a

janeiro de 1985, pelo Laboratório I de Ribeirão Preto, SP, do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, 18% das amostras apresentaram ácido láctico, sendo que os refrigerantes de cola foram os únicos em que não foi encontrado este ácido; porém, constatou-se a presença de ácido fosfórico na totalidade destes refrigerantes. O ácido fosfórico, por ser um acidulante usado em refrigerantes, foi por nós identificado e encontrado em 31% de todas as amostras analisadas. Em mais de 15% dos refrigerantes rotulados como refrigerantes de frutas cítricas (como limão, laranja e tangerina), não foram adicionados sucos naturais, observação constatada pela ausência de betaina.

Analisando ainda a tabela, observamos que em 81% dos refrigerantes examinados foi constatada a presença de ácido benzóico, adicionado como conservador na forma de benzoato de sódio. Dentre as marcas de refrigerantes analisadas constatamos que um único fabricante não usa conservadores em seus produtos, utilizando-se do método da pasteurização.

Para verificar a sensibilidade do método, foram preparadas as seguintes soluções padrões: ácido benzóico a 0,01% p/v, ácido láctico a 0,02% p/v e ácido cítrico a 0,03% p/v, soluções estas com concentrações dez vezes menores dos que os valores máximos permitidos por lei (Decreto Federal n.º 55.871, de 26-3-1965²), identificando-se perfeitamente as respectivas manchas.

CONCLUSÃO

A cromatografia em camada delgada revelou ser um método eficiente para detectar os ácidos cítrico, benzóico e láctico em refrigerantes, por ser simples e sensível quando comparado com outros métodos analíticos.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Paulo de Almeida Vidal pela colaboração prestada na realização deste trabalho.

RIALA6/

RICCIARDI, A.J.; FERREIRA, J.F. & CARLUCCI, N.T. — Simultaneous identification of benzoic acid, citric acid, and lactic acid in commercial soft drinks, by thin-layer chromatography. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):81-84, 1985.

ABSTRACT: A description is made of a procedure for the detection of citric acid, benzoic acid and lactic acid in commercial soft drinks. Thin-layer chromatography was found to be a simple and sensitive method compared with standard analytical methods.

DESCRIPTORS: acidifiers and preservatives in soft drinks, detection; soft drinks, identification of benzoic acid, citric acid and lactic acid by thin-layer chromatography.

RICCIARDI, A.J.; FERREIRA, J.F. & CARLUCCI, N.T. — Identificação simultânea dos ácidos benzóico, cítrico e láctico em refrigerantes, por cromatografia em camada delgada. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):81-84, 1985.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14th ed. Washington, DC, AOAC, 1984. p. 377-8.
2. BRASIL. Leis, decretos etc. — Decreto n.º 55.871, de 26 de março de 1965. *Diário Oficial*, Brasília, 9 abr. 1965. Modifica o Decreto n.º 50.040, de 24 jan. 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterada pelo Decreto n.º 691, de 13 de março de 1962.
3. BRAUN, D. & GEENEN, H. — Dunnschicht-chromatographie von Carbonsauren. *J. Chromatogr.*, 7:56-9, 1962.
4. BUSH, M.L.; MONTGOMERY, R. & PORTER, W.L. — Identification of organic acids on paper chromatograms. *Anal. Chem.*, 24:489-91, 1952.
5. CHEFTEL, R.I. et alii apud LEDERER, E. & LEDERER, M. — *Chromatografia*. 2.^a ed. Buenos Aires, Ateneo, 1960. p. 214.
6. LEUENBERGER, U.; GAUCH, R. & BAUMGARTNER, E. — Determination of food preservatives and saccharin by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 173:343-8, 1979.
7. LONG, A.G. — The separation of acids by paper partition chromatography. *J. Chem. Soc.*, 3:2197-201, 1951.
8. LUGG, J.W. & OVERELL, B.T. apud LEDERER, E. & LEDERER, M. — *Cromatografia*. 2.^a ed. Buenos Aires, Ateneo, 1960. p. 214.
9. MIKES, O. — *Laboratory handbook of chromatography methods*. London, Van Nostrand, 1966. p. 97.
10. OPIENSKA-BLAUTH, J.; SAKLAWSKA-SZYMONOWA, M. — Partition paper chromatography of some organic acids. *Nature*, 168:511-2, 1951.
11. RANDEKATH, K. — *Cromatografia de capa fina*. 2.^a ed. Bilbao, Urmo, 1965. p. 263-5.
12. RILEY, R.T. & MIX, M.C. — Thin-layer separation of citric acid cycle intermediates, lactic acid and the amino acids taurine. *J. Chromatogr.*, 189:286-8, 1980.
13. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2.^a ed. São Paulo, 1976. p. 76.
14. STARK, J.B.; GOODBAN, A.E. & OWENS, H.S. — Paper chromatography of organic acids. *Anal. Chem.*, 23:413-5, 1951.

Recebido para publicação em 5 de agosto de 1985.