

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE ASPARTAME EM ADOÇANTES POR INJEÇÃO EM FLUXO USANDO UM REATOR EM FASE SÓLIDA CONTENDO FOSFATO DE ZINCO IMOBILIZADO****Airton Vicente Pereira**

Departamento de Ciências Farmacêuticas - Setor de Ciências Biológicas e da Saúde - Universidade Estadual de Ponta Grossa - Ponta Grossa - PR

**Luiz Humberto Marcolino-Junior e Orlando Fatibello-Filho\***

Departamento de Química - Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia - Universidade Federal de São Carlos - CP - 676 - 13560-970 - São Carlos - SP

Recebido em 4/1/99; aceito em 1/9/99

**FLOW INJECTION SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF ASPARTAME IN SWEETENERS USING A SOLID-PHASE REACTOR CONTAINING ZINC PHOSPHATE IMMOBILIZED.** A flow injection spectrophotometric method was developed for determining aspartame in sweeteners. Sample was dissolved in water and 250  $\mu\text{L}$  of the solution was injected into a carrier stream of  $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  sodium borate solution. The sample flowed through a column (14 cm x 2.0 mm) packed with  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$  immobilized in a polymeric matrix of polyester resin and Zn(II) ions were released from the solid-phase reactor by formation of the Zn(II)-aspartame complex. The mixture merged with a stream of borate buffer solution (pH 9.0) containing 0.030 % (m/v) alizarin red S and the Zn(II)-alizarin red complex formed was measured spectrophotometrically at 540 nm. The calibration graph for aspartame was linear in the concentration range from 10 to 80  $\mu\text{g mL}^{-1}$  with a detection limit of 4  $\mu\text{g mL}^{-1}$  of aspartame. The RSD was 0.3 % for a solution containing 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$  aspartame ( $n = 10$ ) and seventy results were obtained per hour. The proposed method was applied for determining aspartame in commercial sweeteners.

**Keywords:** aspartame; flow injection spectrophotometry; solid-phase reactor; sweeteners.

**INTRODUÇÃO**

O aspartame (éster metílico da *L*- $\alpha$ -aspartil-*L*-fenilalanina) é um adoçante de baixo valor calórico sintetizado a partir de metanol, *L*-fenilalanina e ácido *L*-aspártico<sup>1</sup>. Esse dipeptídeo vem sendo amplamente utilizado em produtos dietéticos como pudins, gelatinas, refrescos e sorvetes e também como adoçantes de mesa.

Diversos procedimentos analíticos têm sido propostos para a determinação do aspartame em produtos dietéticos. Os procedimentos espectrofotométricos na região do visível envolvem reações prévias desse adoçante com diferentes reagentes: ninidrina<sup>2</sup>, ácido cloroanílico<sup>3</sup>, dietilditiocarbamato de sódio<sup>4</sup> e *p*-dimetilaminobenzaldeído<sup>5</sup>. Contudo, esses procedimentos são demasiadamente demorados ou não possuem a seletividade necessária para determinadas amostras. A seletividade do procedimento analítico envolvendo a reação com ninidrina foi melhorada utilizando-se a extração desse adoçante com carbonato de propileno<sup>6</sup> ou uma mistura de metanol e isopropanol<sup>7</sup> (1+1 v/v). Entretanto, esses procedimentos requerem aquecimento durante pelo menos 20 minutos em banho com temperatura mantida a  $40,0^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  para acelerar o desenvolvimento de cor do produto da reação.

Métodos potenciométricos incluem a titulação do aspartame utilizando-se um eletrodo seletivo contendo o par cetilpiridíneo-trinitrobenzenossulfonato<sup>8</sup> ou um eletrodo seletivo para fluoreto, após reação prévia do aspartame com o reagente dinitrofluorbenzeno<sup>9</sup>.

Métodos cromatográficos como cromatografia gás-líquido<sup>10</sup> e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)<sup>11-14</sup> têm sido utilizados na determinação do aspartame. A CLAE é a técnica mais atrativa devido a possibilidade da determinação simultânea de aspartame, sacarina, ciclamato e acessulfame-K

e de outros aditivos de interesse. Porém, o tempo de análise e o custo são fatores desfavoráveis quando um grande número de amostras devem ser processadas.

Biossensores envolvendo diferentes enzimas e técnicas de imobilização estão descritos na literatura<sup>15-21</sup>. Um biossensor contendo a *L*-aspartase<sup>19</sup> e outro contendo essa enzima co-imobilizada com a carboxipeptidase A<sup>20</sup> imobilizadas sobre uma membrana de um eletrodo sensível a amônia foram utilizados na determinação de aspartame em diversos produtos dietéticos. Entretanto, esses eletrodos são caracterizados por um tempo de vida limitado devido a grande instabilidade da enzima *L*-aspartase e pela interferência do *L*-aspartato. Um biossensor amperométrico<sup>21</sup> construído pela imobilização de células de *Bacillus subtilis* em uma membrana de um eletrodo de oxigênio foram utilizados com razoável e boa sensibilidade, porém glicose e os aminoácidos constituintes do aspartame causam significativa interferência.

Um analisador de aminoácidos<sup>2</sup> foi utilizado no desenvolvimento de um método semi-automático para a determinação do aspartame em bebidas dietéticas. Entretanto, o tempo de análise variou entre 20 e 60 minutos por amostra.

Apenas dois procedimentos por injeção em fluxo para a determinação de aspartame são encontrados na literatura<sup>16,22</sup>. Entretanto, baixas frequências analíticas puderam ser alcançadas com esses sistemas em fluxo.

A utilização de reagentes em fase sólida em sistemas por injeção em fluxo constitui-se numa das modificações mais interessantes neste tipo de sistema e tem sido explorada em diferentes áreas da química analítica<sup>23</sup>. Esta modificação consiste no acoplamento ao sistema de injeção em fluxo de um reator em fase sólida contendo reagentes imobilizados (natural, química ou fisicamente) em um dado ponto do sistema em fluxo através do qual deve passar o par amostra-solução transportadora para facilitar a reação na interface sólido-solução. Anteriormente, desenvolvemos sistemas por injeção em fluxo tendo acoplado reatores em fase sólida contendo fosfato

e-mail: bello@dq.ufscar.br

de cobre(II)<sup>24</sup> e hidróxido de ferro(III)<sup>25</sup> imobilizados em resina de poliéster para determinação de ácido ascórbico. Os íons Cu(I) e Fe(II) resultantes da redução de Cu(II) e Fe(III) pelo ácido ascórbico foram determinados espectrofotometricamente pela formação dos complexos Cu(I)-batocuproína e Fe(II)-1,10-fenantrolina, respectivamente.

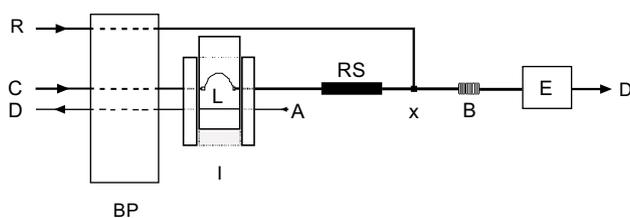
Alguns íons formam diferentes espécies de complexos com o aspartame dependendo do pH<sup>26</sup>. Makar et al<sup>27</sup> determinaram as constantes de estabilidade de complexos de zinco(II) com diversos ligantes com finalidades terapêuticas. Dentre estes, o complexo de zinco(II) com aspartame apresentou boa estabilidade nas condições de pH e força iônica do trabalho desenvolvido, sendo assim escolhido para a preparação do reator em fase sólida.

No presente trabalho, foi desenvolvido um sistema por injeção em fluxo com um reator em fase sólida contendo fosfato de zinco(II) para a determinação de aspartame. O método é baseado na reação de complexação do aspartame (em solução) com o zinco(II) imobilizado no reator em fase sólida. O zinco(II) liberado do reator é complexado com vermelho de alizarina S e determinado espectrofotometricamente em 540 nm.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Equipamentos

O diagrama do sistema em fluxo está esquematizado na Figura 1. As soluções foram propulsionadas com uma bomba Ismatec modelo 7618-50 (Zurich, Switzerland). As amostras foram injetadas na solução carregadora utilizando-se um injetor-comutador manual similar aquele proposto por Reis & Bergamin-Filho<sup>28</sup>. Os valores de absorbância do complexo zinco(II)-vermelho de alizarina S foram obtidos com um espectrofotômetro Femto modelo 435 (São Paulo, Brasil) equipado com uma célula de fluxo de 1 cm de caminho ótico. Os sinais analíticos foram registrados com um registrador Cole Parmer modelo 1202-000 (Chicago, IL, USA). Tubos de polietileno com 0,8 mm de diâmetro interno foram utilizados na montagem do sistema em fluxo.



**Figura 1.** Diagrama de fluxos para determinação espectrofotométrica de aspartame. As três peças retangulares representam um esquema do injetor-comutador (I), sendo as duas peças externas fixas e a central móvel. BP representa a bomba peristáltica; A, soluções padrão ou de amostra; C, solução transportadora de borato de sódio  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  com vazão de  $2,8 \text{ mL min}^{-1}$ ; L, alça de amostragem ( $250 \mu\text{L}$ ); RS, reator em fase sólida contendo  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$  ( $14 \text{ cm} \times 2,0 \text{ mm d.i.}$ ); R, solução reagente de vermelho de alizarina  $0,030 \%$  (m/v) com vazão de  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ ; x, ponto de confluência; B, reator reacional ( $25 \text{ cm}$ ); E, espectrofotômetro ( $540 \text{ nm}$ ) e D, descarte.

### Reagentes e soluções

Aspartame (Sigma), vermelho de alizarina S (Vetec), resina poliéster (Resapol T-208, Resana), catalisador peróxido de metiletilcetona (Ibêre, Ramires & Cia), borato de sódio e ácido bórico (Merck) foram utilizados neste trabalho.

A solução estoque de aspartame  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  foi preparada dissolvendo-se  $100 \text{ mg}$  de aspartame em  $100 \text{ mL}$  de água

deionizada. Soluções de referência contendo entre  $10\text{-}80 \mu\text{g mL}^{-1}$  de aspartame foram preparadas por diluição da solução estoque em água deionizada.

A solução estoque de borato de sódio  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  foi preparada dissolvendo-se borato de sódio ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ) em água deionizada.

A solução de vermelho de alizarina S  $0,030\%$  (m/v) foi preparada dissolvendo-se  $150 \text{ mg}$  do reagente (Vetec) em  $500 \text{ mL}$  de tampão borato pH 9,0.

### Métodos

#### Preparação e imobilização do $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$

O fosfato de zinco(II) foi preparado tratando-se  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $1,5 \text{ mol L}^{-1}$  com excesso de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ . O sólido branco obtido correspondendo ao  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$  (s) foi lavado com água deionizada e seco em estufa a  $110^\circ\text{C}$  por 4 h.

Diferentes proporções de resina poliéster e fosfato de zinco foram misturadas em frascos de polietileno. Após homogeneização manual,  $0,5 \text{ mL}$  do catalisador (peróxido de metiletilcetona) foram adicionados. A mistura foi deixada à temperatura ambiente por 24 h. O sólido rígido obtido foi quebrado com martelo e um moedor de café e um liqüidificador doméstico foram utilizados para obter partículas de tamanhos reduzidos. A seleção do tamanho das partículas foi realizada utilizando-se peneiras com granulometria apropriada.

Cerca de  $400 \text{ mg}$  das partículas de poliéster com granulometria entre  $250\text{-}350 \mu\text{m}$  contendo  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$  foram introduzidas, por aspiração com uma seringa, dentro de tubos de polietileno com uma das extremidades vedada com um pedaço de lã de vidro para prevenir a saída das partículas da coluna.

#### Preparo e análise das amostras

Adoçantes dietéticos contendo aspartame: Zero Cal (DM Indústria Farmacêutica Ltda, Barueri, SP), Adocyl (Virtu's Indústria e Comércio Ltda, Santo Amaro, SP), Gold (Vepê Indústria Alimentícia Ltda, São Bernardo do Campo, SP), Equal (Monsanto do Brasil Ltda, São Paulo, SP) e Veado D'ouro (Laboratório Veafarm, Ltda, São Paulo, SP) foram adquiridos no comércio local e analisados pelo método proposto. Massas exatamente determinadas em balança analítica, foram transferidas para bequeres de  $50 \text{ mL}$  e dissolvidas com alíquotas de aproximadamente  $50 \text{ mL}$  de água. A sílica não dissolvida foi filtrada e o filtrado transferido quantitativamente para balões volumétricos de  $100 \text{ mL}$ , sendo os seus volumes completados com água. Essas soluções foram posteriormente diluídas para obtenção de soluções de aspartame com concentrações dentro da faixa de linearidade da curva analítica.

**Método comparativo:** Os resultados obtidos pelo método proposto foram comparados com aqueles obtidos usando-se o procedimento convencional envolvendo a reação com ninidrina, conforme proposto por Vieira & Fatibello-Filho<sup>7</sup>.

#### Procedimento

O diagrama esquemático do sistema em fluxo utilizado está representado na Figura 1. Alíquotas de  $250 \mu\text{L}$  (soluções de referência ou de amostras) foram injetadas na solução transportadora (borato de sódio  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) utilizando-se um injetor-comutador manual<sup>28</sup>. As vazões da solução transportadora e do reagente foram de  $2,8$  e  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ , respectivamente. Soluções de aspartame, ( $10\text{-}80 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) quando inseridas na solução transportadora, passam pelo reator sólido e o Zn(II) liberado pela formação do complexo Zn(II)-aspartame, reage com o reagente (vermelho de alizarina S  $0,030 \%$  (m/v) em tampão borato pH 9,0) à partir do ponto de

confluência x. O complexo Zn(II)-vermelho de alizarina S formado no reator helicoidal B (25 cm, 0,8 mm d.i.) foi monitorado espectrofotometricamente em 540 nm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estudos preliminares

Os experimentos preliminares usando o sistema em fluxo proposto foram realizados para a escolha da solução carregadora, do reagente para detecção do complexo Zn(II)-aspartame e do comprimento de onda adequado para a medida dos valores de absorbância.

Um requisito importante para o tempo de vida do reator em fase sólida é a baixa solubilidade do reagente imobilizado na solução transportadora que flui pelo mesmo. Desta forma, diversas soluções transportadoras como água deionizada, cloreto de potássio  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , borato de sódio  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , tampão fosfato pH 7,0 e 8,0 e tampão borato pH 8, 9 e 10 foram usadas e avaliadas quanto a repetibilidade e estabilidade dos sinais de absorbância. A solução de borato de sódio  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  apresentou os melhores resultados em termos de sensibilidade e reprodutibilidade. Posteriormente, o efeito da concentração do borato de sódio foi avaliado na faixa de concentração entre  $1,0 \times 10^{-6}$  e  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Observou-se que o sinal analítico decresceu gradualmente com o aumento da concentração de borato de sódio à partir de  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Sendo assim, a solução de borato de sódio  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  foi escolhida como solução carregadora neste trabalho.

Os reagentes para a determinação espectrofotométrica do Zn(II) em solução aquosa (testados simultaneamente com as soluções carregadoras) foram o violeta de pirogalol, vermelho de alizarina S<sup>29</sup> e arsenazo (III). O vermelho de alizarina S em tampão borato pH 9,0 resultou em melhor sensibilidade quando combinado com a solução carregadora de borato de sódio  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Os espectros de absorção do vermelho de alizarina S e do complexo Zn(II)-vermelho de alizarina S mostraram que a maior diferença entre os valores de absorbância dessas soluções foi verificada em 540 nm. Neste comprimento de onda, o reagente vermelho de alizarina S, na concentração utilizada, apresentou apenas uma absorbância residual. Portanto, o comprimento de onda de 540 nm foi selecionado para o resto do trabalho.

### Reator em fase sólida

Os principais parâmetros que podem interferir no desempenho do reator em fase sólida foram avaliados como razão ponderal entre fosfato de zinco e resina poliéster, diâmetro interno e comprimento da coluna e tamanho de partícula foram avaliados. As colunas foram previamente submetidas à passagem contínua da solução carregadora por 10 min antes das injeções das soluções de aspartame para minimizar efeitos de compactação ao longo do tempo. Em termos práticos, os sinais de absorbância estabilizaram após as primeiras 10 injeções das soluções de aspartame.

Três diferentes razões ponderais de  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$  e a resina poliéster (2,5/10, 5/10 e 10/10 (m/m) foram investigadas para verificar o efeito do aumento da concentração de Zn(II) disponível para a complexação do aspartame. Observou-se um aumento da sensibilidade do procedimento FIA com o aumento da razão ponderal, ou seja, o aumento da massa de Zn(II) incorporado na resina poliéster. Como a proporção (1:1) resulta na máxima carga de material sólido que pode ser agregado à solução da resina poliéster (solução em solvente orgânico), esta foi escolhida para a preparação dos reatores.

A uniformidade das partículas introduzidas na coluna também afetam a eficiência do reator em fase sólida. Quatro faixas

de tamanho de partícula foram testadas neste trabalho (100-250, 100-350, 250-350 e 350-500  $\mu\text{m}$ ). A faixa de 250-350  $\mu\text{m}$  resultou em melhor sensibilidade e apresentou uma pressão hidrodinâmica compatível com sistemas por injeção em fluxo, portanto, foi a faixa escolhida neste trabalho. Esses resultados estão apresentados na Figura 2.

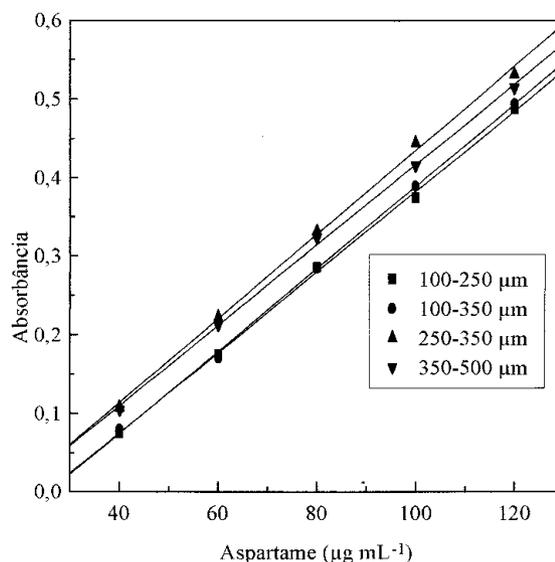


Figura 2. Efeito do tamanho de partícula sobre o sinal analítico utilizando-se concentrações de aspartame entre 20-120  $\mu\text{g mL}^{-1}$  utilizando-se alça de amostragem e bobina de 50 cm, reator em fase sólida (10 cm, 2,0 mm d.i.).

A Figura 3 apresenta o efeito do diâmetro interno de 1,0, 1,5 e 2,0 mm de colunas de 10 cm de comprimento empacotadas com partículas de 250-350  $\mu\text{m}$ , sobre a resposta analítica do sistema. As colunas com 2,0 mm de diâmetro interno resultaram em melhor sensibilidade. Além disso, é mais fácil reproduzir a preparação de colunas com 2,0 mm de diâmetro interno. Portanto, coluna com diâmetro interno de 2,0 mm foi escolhido neste trabalho. A lavagem dos reatores é eficiente com a solução transportadora utilizada e o tempo de limpeza extremamente reduzido, permitindo assim a injeção de uma nova alíquota de amostra em poucos segundos, resultando em uma frequência analítica da ordem de 70 determinações por hora.

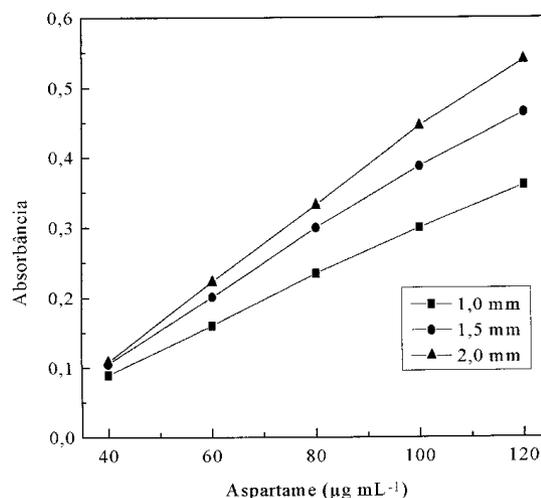


Figura 3. Efeito do diâmetro interno do reator utilizando-se tubos de polietileno de 10 cm, alça de amostragem e bobina de 50 cm.

O tempo de reação entre o analito e o Zn(II) imobilizado no reator sólido depende de dois fatores: vazão da solução carregadora e comprimento do reator sólido. O efeito do comprimento do reator foi avaliado na faixa de 5 a 17 cm com uma vazão da solução carregadora de 2,5 mL min<sup>-1</sup>. Os valores de absorvância aumentaram gradualmente com o comprimento dos reatores para valores até 14 cm e mantiveram-se praticamente constantes para os reatores mais longos. Os reatores de 14 cm e 2,0 mm (d.i.) empacotados com fosfato de zinco imobilizado em poliéster na proporção 1:1 (m/m) e tamanho de partículas na faixa de 250-350 µm foram utilizados no restante do trabalho.

A durabilidade e reprodutibilidade destes reatores sólidos foram avaliadas preparando-se curvas analíticas com soluções de aspartame na faixa de concentração de 10 a 80 µg mL<sup>-1</sup>. Em média, cada reator em fase sólida mantém cerca de 98% da resposta inicial após 150-200 determinações, sendo então recomendado a obtenção de nova curva analítica após aquele número de determinações de aspartame. Além disso, um reator em fase sólida pode ser utilizado para 700-800 determinações de aspartame, podendo esse número ser aumentado para soluções de aspartame de menores concentrações (10-40 µg mL<sup>-1</sup>).

### Sistema em fluxo

As variáveis do sistema em fluxo otimizadas foram: vazões das soluções carregadora e reagente, volume da amostra (L) e comprimento do reator helicoidal (B)

O efeito do volume da amostra foi avaliado 125 µL e 375 µL para concentrações de aspartame entre 20 e 100 µg/mL (Figura 4). A sensibilidade aumentou gradualmente até um volume de 375 µL, entretanto um volume de 250 µL foi escolhido como um melhor compromisso entre sensibilidade e frequência analítica.

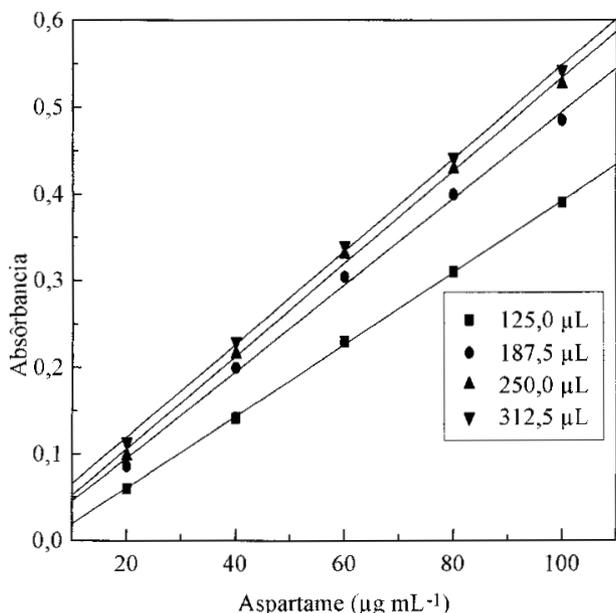


Figura 4. Efeito do volume de amostra sobre a magnitude do sinal analítico para concentrações de aspartame entre 20-100 µg mL<sup>-1</sup>, alça de amostragem e bobina de 50 cm.

O efeito da vazão da solução carregadora foi avaliada entre 1,1 e 3,2 mL min<sup>-1</sup>, mantendo constante a vazão do reagente em 2,0 mL min<sup>-1</sup>. A sensibilidade aumentou até a vazão de 2,0 mL min<sup>-1</sup>, acima da qual diminuiu gradualmente. Este efeito pode ser atribuído a uma diminuição do tempo de contato da

zona de amostra com o fosfato de zinco(II) imobilizado no reator em fase sólida. Entretanto, uma vazão de 2,8 mL min<sup>-1</sup> foi escolhida para aumentar a frequência analítica sem perda apreciável da sensibilidade.

A vazão do reagente vermelho de alizarina S 0,030 % (m/v) em tampão borato pH 9,0 foi variada entre 0,7 e 2,8 mL min<sup>-1</sup>. A vazão de 2,0 mL min<sup>-1</sup> resultou nos valores mais elevados de absorvância e foi selecionada como ideal. Com esta combinação de vazões da solução carregadora e reagente, cerca de 70 injeções podem ser implementadas por hora.

A influência do reator helicoidal B sobre a sensibilidade foi estudada na faixa de 12,5 a 100 cm. Os valores de absorvância decresceram com o aumento do comprimento do reator, provavelmente devido à dispersão da solução de Zn(II)-vermelho de alizarina S. Portanto, 25 cm foi selecionado como o comprimento ideal do reator helicoidal, uma vez que 12,5 cm resulta em uma ligeira instabilidade na linha de base. Os resultados anteriores foram obtidos com bobinas de 50 cm. Dando seqüência ao trabalho desenvolvido, a partir dessa etapa passou-se a utilizar uma bobina reacional de 25 cm, obtendo-se assim uma maior sensibilidade e linearidade (10 a 80 µg mL<sup>-1</sup>).

### Efeito da concentração vermelho de alizarina S

O efeito da concentração desse reagente foi estudado na faixa de 0,005 a 0,040 % (m/v) em tampão borato pH 9,0 injetando-se aspartame 60 µg mL<sup>-1</sup>. Como mostra a Figura 5, os valores de absorvância aumentaram até a concentração de 0,030 % (m/v), permanecendo constante em concentrações superiores. Conseqüentemente, a solução de vermelho de alizarina S 0,030 % (m/v) em tampão borato pH 9,0 foi selecionada neste trabalho.

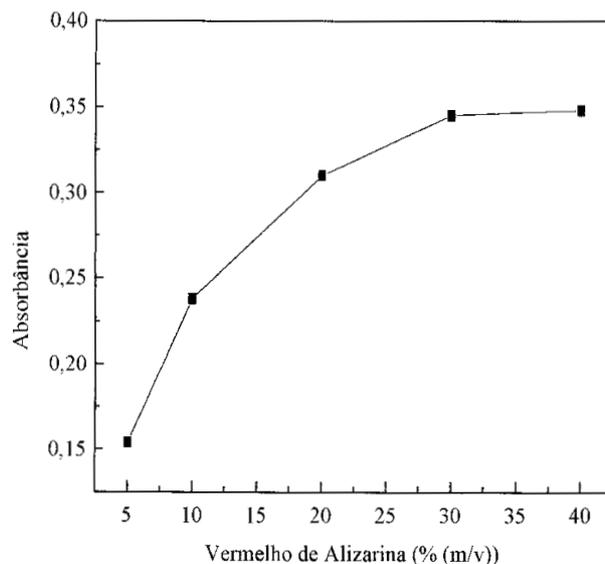


Figura 5. Efeito da concentração do vermelho de alizarina S em tampão borato pH 9,0 utilizando-se solução de aspartame 60 µg mL<sup>-1</sup>.

### Estudo de interferentes e recuperação

A seletividade do método proposto foi avaliada adicionando-se soluções de eventuais interferentes (componentes presentes na matriz e outros adoçantes associados) em soluções padrão de aspartame (40 µg mL<sup>-1</sup>) e os resultados comparados com os obtidos usando soluções sem adições de interferentes. Lactose não causa qualquer interferência mesmo em concentrações mais elevadas que aquelas normalmente encontradas nas amostras. Dióxido de silício é usado como

antimectante nas amostras sólidas (mistura de pós em envelopes), mas não é solúvel em água, sendo portanto separado durante a filtração da solução de amostra. Ciclamato e acesulfame-k não causam interferência quando presentes na mesma concentração do aspartame, enquanto a sacarina causa interferência positiva mesmo quando presente na mesma concentração de aspartame, provavelmente devido a formação de sacarina de zinco. Entretanto, a sacarina não é encontrada em combinação com o aspartame em produtos dietéticos. A interferência positiva causada pelo sorbitol, geralmente presente em amostras líquidas, impede a determinação de aspartame neste tipo de amostra.

No estudo de adição e recuperação, três concentrações diferentes de aspartame (20, 30 e 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) foram adicionadas em três amostras comerciais de adoçantes dietéticos e os resultados comparados com aqueles obtidos com as amostras. Os resultados estão apresentados na Tabela 1. Os valores percentuais de recuperação variaram entre 98,5 e 100,7 %, o que sugere a ausência de interferência da matriz dessas amostras sólidas e a boa exatidão do procedimento proposto.

**Tabela 1.** Estudo de adição e recuperação de aspartame em adoçantes de mesa.

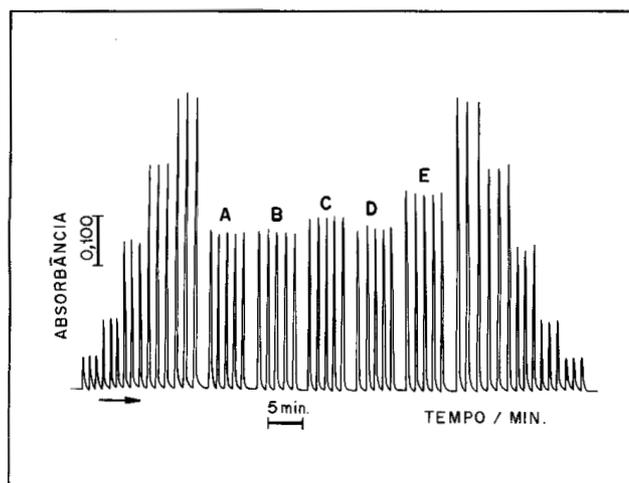
Amostra	Aspartame/ $(\mu\text{g mL}^{-1})$		(%)
	Adicionado	Recuperado	
Gold	20	19,9	99,6
	30	30,2	100,7
	40	39,8	99,5
Adocyl	20	19,7	98,5
	30	30,1	100,3
	40	39,9	99,8
Zero Cal	20	20,0	100,0
	30	29,9	99,7
	40	39,7	99,3

### Curva analítica e aplicações

A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de aspartame entre 10 e 80  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ( $A = -0,0084 + 0,00747 C$ ;  $r = 0,9995$  onde A é a absorbância e C a concentração de aspartame em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) com um limite de detecção de 4  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de aspartame. O desvio padrão relativo de 10 determinações sucessivas de aspartame (40  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) foi de 0,3% e a frequência analítica alcançada foi de 70 determinações por hora.

O método proposto foi aplicado na determinação de aspartame em amostras comerciais de adoçantes contendo aspartame. Triplicatas das soluções de referência de aspartame e quintuplicatas das soluções das amostras foram injetadas no sistema FIA mostrado na Figura 1. Um diagrama típico está

apresentado na Figura 6 e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.



**Figura 6.** Diagrama típico obtido com o sistema proposto para a determinação de aspartame. Da esquerda para a direita: triplicata das soluções de referência de aspartame nas concentrações de 10,0; 20,0; 40,0; 60,0; e 80,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , seguido de quintuplicatas das amostras (A) Zero Cal, (B) Adocyl, (C) Equal, (D) Gold e (E) Veado D'Ouro e soluções de referência novamente.

Os teores de aspartame obtidos usando-se o sistema de injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica estão em boa concordância com os resultados obtidos usando o método espectrofotométrico com o reagente ninidrina e também com os teores declarados no rótulo desses produtos, confirmando assim uma boa exatidão do procedimento FIA desenvolvido.

### CONCLUSÃO

O método FIA proposto para a determinação de aspartame envolvendo o acoplamento de um reator em fase sólida contendo  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$  imobilizado em resina poliéster é simples, rápido e sensível. Os resultados obtidos pelo método desenvolvido estão em boa concordância com aqueles obtidos com o método espectrofotométrico com ninidrina e pode ser utilizado na determinação de aspartame em adoçantes de mesa.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP, CNPq, PADCT/CNPq e FINEP pelo suporte financeiro, bem como o CNPq pelas bolsas de doutorado de A.V.P. e de iniciação científica (PIBIC/CNPq) de L.H.M.Jr.

**Tabela 2.** Determinação de aspartame em amostras de adoçantes de mesa pelo método proposto e pelo método espectrofotométrico com ninidrina.

Amostras	Aspartame ( $\text{mg} \pm \text{s}$ )		Método Proposto	Erro relativo (%)	
	Rotulado ( $\text{mg/g}$ )	Método espectrofotométrico		$\text{Er}_1$	$\text{Er}_2$
Zero Cal	38	$37,8 \pm 1,2$	$37,4 \pm 0,3$	-1,1	-1,6
Adocyl	37	$36,4 \pm 0,7$	$37,1 \pm 0,4$	+1,9	+0,3
Equal	38	$37,6 \pm 1,0$	$38,2 \pm 0,2$	+1,6	+0,5
Gold	—	$36,7 \pm 0,8$	$37,3 \pm 0,4$	+1,6	—
Veado D'ouro	38	$39,7 \pm 0,6$	$38,5 \pm 0,2$	-3,0	+1,3

$\text{Er}_1$  Método proposto vs método colorimétrico

$\text{Er}_2$  Método proposto vs valor rotulado

## REFERÊNCIAS

1. Mazur, R. H.; Schlatter, J. M.; Goldkamp, A. H.; *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 2684.
2. Vesely, Z.; Dávidková, E.; Prudel, M.; *Die Nahrung* **1980**, *24*, 525.
3. Prasad, U. V.; Divakar, T. E.; Sastry, C. S. P.; *Food Chemistry* **1988**, *28*, 269.
4. Güven, K. C.; Özol, T.; *Acta Pharm. Turc.* **1984**, *26*, 28.
5. Özol, T.; *Acta Pharm. Turc.* **1984**, *26*, 59.
6. Lau, O. W.; Luk, S. F.; Chan, W. M.; *Analyst* **1988**, *113*, 765.
7. Vieira, I. C.; Fatibello-Filho, O.; *Quím. Nova* **1995**, *18*, 250.
8. Badawy, S. S.; Issa, Y. M.; Tag-Eldin, A. S.; *Electroanalysis* **1996**, *8*, 1060.
9. Malaki, E. A.; Koupparis, M. A.; *Analyst* **1987**, *112*, 757.
10. Furda, I.; Malizia, P. D.; Kolor, M. G.; Vernieri, P. J.; *J. Agr. Food Chem.* **1975**, *23*, 340.
11. Tyler, T. A.; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **1984**, *67*, 745.
12. Stamp, J. A.; Labuza, T. P.; *J. Food Sci.* **1989**, *54*, 1043.
13. Tsang, W. S.; Clarke, M. A.; Parrish, F. W.; *J. Agric. Food. Chem.* **1985**, *33*, 734.
14. Verzella, G.; Bagnasco, G.; Mangia, A.; *J. Chromatogr.* **1985**, *349*, 83.
15. Smith, V. J.; Green, R. A.; Hopkins, T. R.; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **1989**, *72*, 30.
16. Campagnone, D.; Sullivan, D. O.; Guilbault, G. G.; *Analyst* **1997**, *122*, 487.
17. Dinçkaya, E.; Çagin, M.; Telefoneu, A.; *Food Chemistry* **1994**, *50*, 95.
18. Mulchandani, A.; Male, K. B.; Luong, J. H. T.; Gibbs, B. F.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *234*, 465.
19. Guilbault, G. G.; Lubrano, G. J.; Kauffmann, J. M.; Patriarcho, G. J.; *Anal. Chim. Acta* **1988**, *206*, 369.
20. Fatibello-Filho, O.; Suleiman, A. A.; Guilbault, G. G.; Lubrano, G. J.; *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 2397.
21. Renneberg, R.; Riedel, K.; Scheller, F.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1985**, *21*, 180.
22. Nóbrega, J. A.; Fatibello-Filho, O.; Vieira, I. C.; *Analyst* **1994**, *119*, 2101.
23. Martínez-Calatayud, J.; García Mateo, J. V.; *Trends Anal. Chem.* **1993**, *12*, 428.
24. Pereira, A. V.; Fatibello-Filho, O.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, *366*, 55.
25. Pereira, A. V.; Fatibello-Filho, O.; *Talanta*, **1998**, *47*, 11.
26. Aihara, M.; Tanaka, F.; Fujimoto, M.; Takehara, K.; *Anal. Sciences* **1992**, *8*, 755.
27. Makar, G. K. R.; Touche, M. L. D.; Williams, D. R.; *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1976**, *1*, 1016.
28. Reis, B. F.; Bergamin-Filho, H.; *Quím. Nova* **1993**, *16*, 570.
29. Saxena R.; Singh, A. K.; Sambi, S. S.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *295*, 199.