

“ Desenvolvimento e validação de método para determinação de 2-metil-imidazol e 4-metil-imidazol por HPLC em bebidas tipo cola ”

Resumo

O caramelo classe IV é um corante de uso difundido em diversos produtos, principalmente refrigerantes. Durante o seu processamento podem ser gerados compostos com possível potencial cancerígeno, o 2-metil-imidazol(2-MEI) e 4-metil-imidazol(4-MEI). Assim, estudos sobre esses compostos e o desenvolvimento de metodologias, são de suma importância. Através da cromatografia líquida de alta eficiência é possível identificar e quantificar esses compostos. A metodologia desenvolvida foi validada, portanto os resultados podem ser aceitos. Entretanto, nas 8 amostras de refrigerante de cola e nas 4 amostras de refrigerante guaraná, as substâncias não foram detectadas.

Palavras-chave:

HPLC, Imidazol, Bebidas

Introdução

Refrigerantes, na grande maioria, possuem em sua composição o corante caramelo em diferentes níveis de concentração.

O aspecto visual é decisivo na escolha de um produto, e por isso, os corantes têm se destacado como uma das classes de aditivos mais usados, tendo o corante caramelo um uso expressivo. No processo de fabricação são gerados os isômeros (2-MEI e 4-MEI), e estudos apontam para um possível potencial cancerígeno. A preocupação a respeito dos limites encontrados impulsiona pesquisas na área, que são muito importantes no Brasil, país que é o 3º produtor mundial de refrigerantes.

Técnicas cromatográficas têm sido desenvolvidas para analisar esses compostos. Assim, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) é uma das metodologias mais utilizadas para a determinação de imidazóis em várias matrizes, sendo usada em protocolos oficiais.

Resultados e Discussão

Foi desenvolvida e validada uma metodologia por HPLC, e os parâmetros obtidos confirmam que a metodologia pode ser utilizada para avaliação dos compostos 2-MEI e 4-MEI.

Para a análise em HPLC foi utilizado o equipamento Agilent série 1100, com sistema de bombeamento ternário, válvula injetora tipo Rheodyne e alça de amostragem de 20µL, com detector de arranjos de diodos (DAD) e software Chemstation.

Para a separação dos compostos, foi utilizada uma coluna cromatográfica Eclipse XDB-C18 de 5 µm e 250x4,6mm d.i. (Agilent), protegida por coluna de guarda Micropore, C18, 5µm e 30x4,6mm d.i.

A fase móvel usada foi 90:10 H₂O/MeOH + 8mmol/L de acetato de amônio. Para o 2-MEI utilizou-se o comprimento de onda de 210nm e para o 4-MEI 215nm.

A vazão foi de 0,5mL/min e o sistema foi isocrático.

Foram utilizadas 8 amostras de refrigerante sabor cola, sendo 5 em embalagens PET e 3 em embalagens lata, além de 4 amostras de refrigerante sabor guaraná, sendo 2 em embalagens PET e 2 em embalagens lata. Todas as amostras foram adquiridas em 3 lotes distintos.

Para a validação do método, foram analisados os parâmetros de linearidade, curva de calibração, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão e precisão (repetibilidade e reprodutibilidade).

As curvas de calibração obtidas apresentaram coeficientes de correlação(R) próximos de 1, portanto, possuem boa linearidade.

$$2\text{-MEI: } y=671,89x + 1203,5 \quad R^2=0,9917$$

$$4\text{-MEI: } y=461,56x+1249,4 \quad R^2=0,9917$$

Os limites de detecção e quantificação encontram-se na tabela abaixo.

Tabela 1. Limites de detecção(LD) e quantificação(LQ).

| | 2-MEI* | 4-MEI* |
|------------|--------|--------|
| LD(3*S/R) | 0,133 | 0,058 |
| LQ(10*S/R) | 0,444 | 0,194 |

(*conc. em mg/100mL)

Os valores de concentração, desvio padrão e coeficiente de variação estão na tabela 2. Foi considerada a média de dez determinações.

Tabela 2. Repetibilidade dos compostos adicionados em solução padrão.

| | 2-MEI | | 4-MEI | |
|-------|-----------|----------|-----------|----------|
| Conc. | 26,75±2,0 | 5,4±0,24 | 31,10±2,1 | 5,0±0,35 |
| C. V. | 3,8 | 4,58 | 3,4 | 7,0 |

(*conc. Em mg/100mL)

A respeito das amostras analisadas, não foram detectadas as substâncias 2-MEI e 4-MEI.

Conclusões

Conclui-se que nas amostras analisadas não foram detectadas as substâncias 2-MEI e 4-MEI. Esse resultado pode ser considerado muito positivo, por se tratar de uma substância com potencial cancerígeno e ser desejável que sua presença, seja a menor possível em alimentos. Os parâmetros analisados na validação apresentaram bons índices e resultados, mostrando que a metodologia pode ser utilizada para a determinação desses compostos em bebidas alimentícias, como os refrigerantes.

Agradecimentos

