



# DEGRADAÇÃO DO MARCADOR QUÍMICO SUCRALOSE POR FOTOPEROXIDAÇÃO ASSISTIDA POR RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

**Palavras-Chave:** TÉCNICAS AVANÇADAS DE TRATAMENTO DE ÁGUA, ÁGUA POTÁVEL, EDULCORANTE

**Autores(as):**

**GUILHERME GALERA BORGES, FECFAU - UNICAMP**

**Professor Dr. JOSÉ ROBERTO GUIMARÃES (Orientador), FECFAU - UNICAMP**

**TIAGO DE OLIVEIRA BRITO (Co-autor), FECFAU - UNICAMP**

**VINÍCIUS DINIZ (Co-autor), IQ - UNICAMP**

---

## INTRODUÇÃO

A pesquisa aqui apresentada tem como base principal o nítido abuso de fármacos lícitos ou ilícitos que possibilitam uma fuga à atual rotina inquietante. Mesmo que alguns desses compostos denotem certo caráter inofensivo, a dependência química dessas substâncias as quais são identificáveis em amostras de águas residuais é indubitável (BODÍK et al., 2021).

Um desses compostos de preocupação emergente é a sucralose. Trata-se de um aditivo edulcorante de alta intensidade e apresenta uma capacidade 600 vezes superior ao açúcar (SYLVETSKY; ROTHER, 2016), além de ser muito pouco metabolizado pelo corpo humano, sendo eliminada através da urina. Em síntese, espera-se encontrar essa substância em corpos hídricos, assim como sua reintrodução no sistema humano, uma vez que as estações de tratamento de água (ETA) tradicionais não são capazes de remover esse composto em nível significativo.

Desse modo, este projeto teve como objetivo aplicar um dos Processos Oxidativos Avançados (POA), como a peroxidação assistida por radiação ultravioleta ( $H_2O_2/UV$ ), a fim de degradar a sucralose e avaliar essa decomposição por meio de métodos analíticos que poderiam determinar sua concentração ao longo do tempo. Primeiramente, foi aplicada a cromatografia à líquido de ultra-alta eficiência acoplado a um espectrômetro de massas sequencial triplo quádruplo (on-line SPE-UHPLC-MS/MS). Entretanto, foi verificada uma inconsistência nos dados de concentração da sucralose através desse método. Logo, uma técnica alternativa foi adotada, isto é, foi possível avaliar a degradação do composto através do método espectrofotométrico (fenol-sulfúrico) e os resultados obtidos foram mais satisfatórios. Além disso, uma análise da determinação do peróxido de hidrogênio residual em água utilizando metavanadato de amônia também foi executada. Destaca-se, por fim, que os valores de concentração inicial da sucralose foram alterados de acordo com a adaptação aos respectivos métodos e tal metodologia, assim como os resultados, estão apresentados e discutidos em subsequência.

## METODOLOGIA

### 1. Cromatografia Líquida

O objetivo central a ser alcançado nos procedimentos experimentais foi a degradação da sucralose considerando uma concentração inicial de  $2,0\text{ mg/L}$ . Para isso, era necessário uma solução estoque inicial de sucralose de concentração igual a  $200\text{ mg/L}$ . Posteriormente, atentando-se ao fato

de que a fase móvel utilizada no cromatógrafo à líquido de ultra-alta eficiência (UPLC) possui base em metanol e, também, levando em conta que a solubilidade da sucralose é maior neste solvente em comparação com a água (LI et.al, 2010), optou-se pelo preparo de uma solução estoque de sucralose em metanol. Dessa maneira, foram ajustados 100 ml de metanol ao balão junto com a sucralose na concentração de 2,0 mg/L. Em seguida, essa solução foi reservada em um frasco de vidro e armazenada refrigerada.

Ademais, para a degradação do peróxido de hidrogênio residual presente na solução do reator foi utilizado uma solução de catalase, uma enzima da classe das peroxidases que catalisa a degradação de peróxidos. A solução de catalase foi preparada a partir da dissolução de 16 mg de catalase, em uma solução tampão fosfato ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 / \text{K}_2\text{HPO}_4$ ) 100 ml, de pH igual a 7,0, a qual foi utilizada para manter o pH da solução próximo de um valor neutro e estável, garantindo a atividade catalítica de degradação do peróxido de hidrogênio.

Feitas essas etapas anteriores ao ensaio desejado, realizou-se três experimentos distintos em uma concentração de peróxido 10 vezes acima da estequiometria de oxidação da sucralose. Logo, foram testados os três processos descritos nos objetivos do projeto, isto é, a peroxidação, a qual consistiu na degradação da sucralose somente na presença de água oxigenada; a fotólise, expondo o composto apenas com a luz ultravioleta; e a fotoperoxidação, um processo oxidativo avançado, em que se combinou tanto a ação do peróxido, quanto da radiação. Ao reator foram adicionados 10 ml da solução de sucralose com a pipeta automática completando o volume para 1 litro com água ultrapura, cuja concentração da sucralose era de 2,0 mg/L. Dessa forma, em cada experimento, coletava-se do reator, nos tempos de 5, 10, 20, 40 e 60 minutos, 9 ml da amostra, adicionando 1 ml de catalase para que esta, como estipulado, degradasse o peróxido adequadamente. Na sequência, as amostras foram filtradas com auxílio de filtros de seringa de PTFE com diâmetro de poro de 0,20  $\mu\text{m}$ . Além disso, vale ressaltar que foi usada uma lâmpada de mercúrio de 15 W.

Após esse procedimento, as amostras eram preservadas em baixa temperatura e por um curto período de tempo (4°C e no máximo 48 horas); em seguida as mesmas eram levadas ao laboratório para determinar a concentração da sucralose e outros parâmetros de monitoramento. Os resultados estão dispostos nos gráficos abaixo.

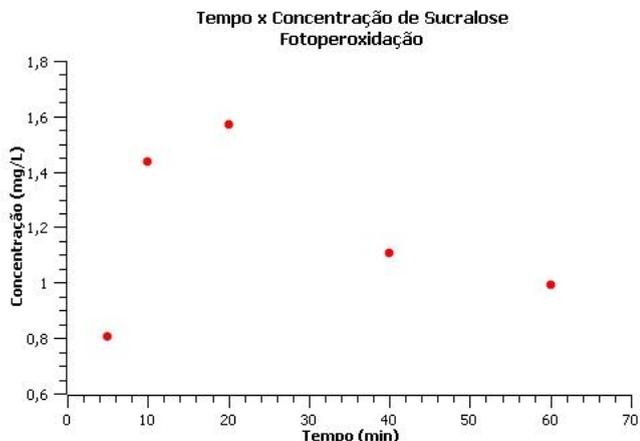


Fig. 01: Processo de degradação por fotoperoxidação.

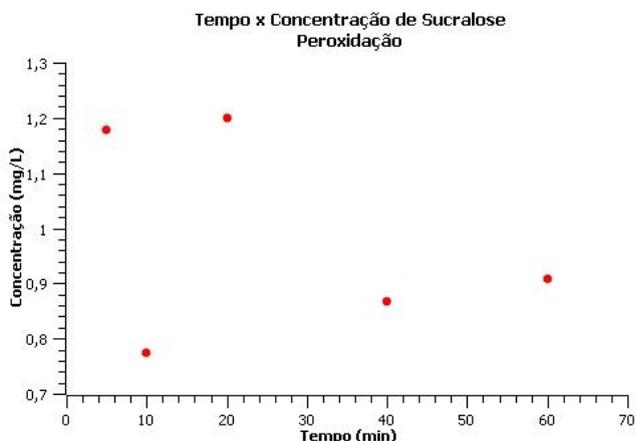


Fig. 02: Processo de degradação por peroxidação.

Através das mesmas soluções anteriormente preparadas e conservadas em refrigeração, foram feitos simultaneamente dois ensaios de fotoperoxidação com suas respectivas duplicatas. Diferentemente dos primeiros experimentos, foram coletadas amostras em seis tempos: 0, 5, 10, 20, 40 e 60 minutos. A diferença, entretanto, entre o primeiro ensaio para o segundo é que neste último foram usados filtros reutilizados. No primeiro ensaio, por sua vez, a coleta em cada tempo foi feita com filtros diferentes, ainda que na duplicata o mesmo filtro foi utilizado. Os resultados estão expressos abaixo.

**Tabela 1** - Resultados da degradação da sucralose ao longo de uma hora de experimento.

Tempo (min)	Concentração (mg/L)
0	1,477
5	0,518
10	0,861
20	1,476
40	1,053
60	1,036

Fonte: Dos autores (2022).

## 2. Método Espectrofotométrico Fenol-Sulfúrico

O método analítico da cromatografia à líquido, mesmo depois de um número grande de tentativas, não apresentou resultados satisfatórios no monitoramento da concentração do composto alvo, a sucralose. Isso porque os resultados obtidos pela cromatografia apresentaram inconsistências analíticas incomuns. Dessa maneira, foi desenvolvido/adaptado um método espectrofotométrico fenol-sulfúrico, como uma tentativa alternativa à verificação das concentrações do composto sucralose. Dessa forma, conforme descrito por Demiate et al (2002), foi estudado e realizada uma comparação entre os métodos colorimétrico e titulométrico para a determinação de açúcares em alimentos, o qual se revelou eficiente, possibilitando a sua aplicação na determinação da concentração da sucralose em teores mais elevados.

Os ensaios de degradação do composto foram realizados da mesma forma descrita no item anterior. Entretanto, a concentração inicial que antes era de 2,0 mg/L, passou a ser 20 mg/L. Uma curva de calibração em diferentes concentrações da sucralose é apresentada na Figura 03. O método, por sua vez, consiste na coleta de 2,0 ml da amostra nos diferentes tempos de degradação com a adição de 50 µl de ácido fênico 90%. Após a agitação dos tubos de ensaio no vórtex, adiciona-se ainda 6,0 ml de ácido sulfúrico e agita novamente as amostras. Resfriadas as soluções, a leitura de absorbância é realizada em um espectrofotômetro em um comprimento de onda de 415 nm. Vale ressaltar que nos ensaios em que há a presença do peróxido de hidrogênio, as amostras são filtradas ao final de cada tempo de decomposição, para que proteínas residuais (catalase) não interfiram no resultado final. A curva de calibração foi executada com as concentrações de 5, 10, 15, 20, 30 e 40 mg/L. Os ensaios foram feitos em duplicata e o resultado está disposto no gráfico da Figura 03.

O método foi aplicado para os três diferentes tipos de processos oxidativos: fotólise, peroxidação e foto peroxidação. É importante destacar que as degradações tanto somente na peroxidação quanto na fotólise não apresentaram uma queda na absorbância como o esperado. Entretanto, isso ficou nítido no ensaio de fotoperoxidação (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV). Os resultados estão dispostos na tabela abaixo.

**Tabela 2** - Resultados da degradação da sucralose ao longo de uma hora de experimento.

Tempo (min)	Peroxidação (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	Fotólise (UVC) Absorbância	Fotoperoxidação (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV)
0	0,325	0,488	0,426
5	0,317	0,498	0,108
10	0,325	0,494	0,039
20	0,305	0,485	0,003
40	0,284	0,491	0,010
60	0,296	0,479	0,004

Fonte: Dos autores (2023).

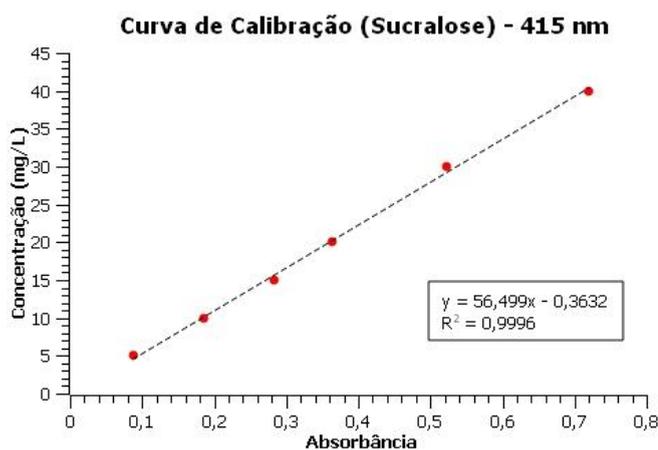


Fig. 03: Curva de calibração - método espectrofotométrico.

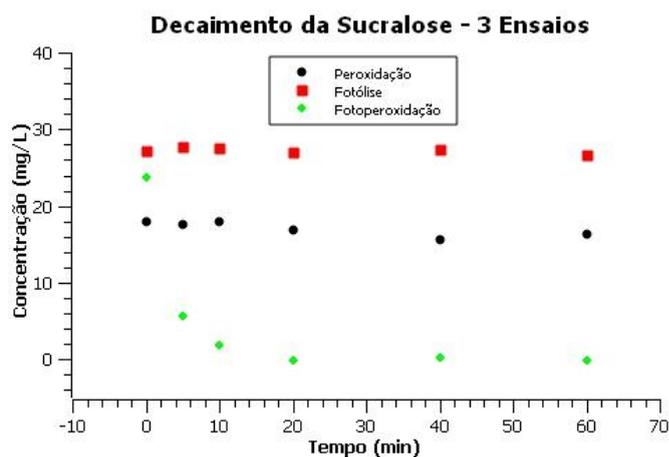


Fig. 04: Decaimento da sucralose nos três ensaios.

### 3. Peróxido Residual

Como uma forma de complementar os estudos da degradação da sucralose, determinou-se o peróxido de hidrogênio residual utilizando metavanadato de amônio. A metodologia aplicada para o ensaio consistiu em adicionar a 4 ml da amostra, 1,6 ml de solução de metavanadato em meio ácido e 4,4 ml de água deionizada. Além disso, foram preparados 100 ml da solução de metavanadato de amônio e ácido sulfúrico, adicionando lentamente em 4 ml de água deionizada 3,1 ml de ácido sulfúrico. Sob agitação mecânica, adicionou-se também 0,82 g de metavanadato. Após todo o sólido estar dissolvido, a solução foi resfriada diluída em um balão volumétrico de 100 ml com água deionizada. Ademais, uma curva de calibração de 5 a 200 mg/L foi feita a partir de uma solução estoque de peróxido a 200 mg/L.

Durante os ensaios, foram coletadas amostras nos tempos de 0, 2,5, 5,0, 10, 20, 40 e 60 minutos e as leituras da absorção eram feitas em 450 nm em um espectrofotômetro. Os dados de decaimento da concentração do oxidante (200 mg/L e 50 vezes da relação estequiométrica) estão dispostos na Figura 05. Assim, foi possível relacionar o tempo de exposição do peróxido à radiação ultravioleta com sua concentração. Logo, infere-se que há um decaimento exponencial do peróxido de hidrogênio durante seu contato com a luz ultravioleta, diminuindo quase que 90% da sua concentração.

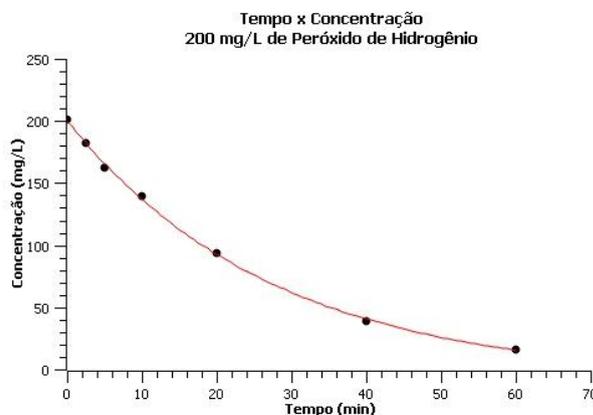


Fig. 05: Decaimento da concentração de peróxido em função do tempo (200 mg/L).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

É possível inferir que, conforme o esperado, à medida que o tempo de degradação aumenta, a concentração de sucralose deveria diminuir ou, ao menos, exibir um padrão de diminuição/estabilização. Em uma primeira análise, observando os gráficos das Figuras 01 e 02 nota-se que houve uma degradação do composto, uma vez que a concentração inicial da sucralose de 2,0 mg/L caiu a valores de até 0,774 mg/L. Contudo, é visível que não houve um padrão de regularidade ou um decaimento entre o tempo e suas respectivas concentrações, o que denota resultados inconsistentes ao método. Além disso, percebe-se também uma certa aleatoriedade nos valores, devido a uma intensa variação nos mesmos, tanto como aumentos quanto diminuições, apresentando resultados inconclusivos.

Ainda assim, de acordo com os dados da Tabela 1, nota-se que não houve regularidade entre o tempo de degradação e suas respectivas concentrações, pois após cinco minutos a concentração cai mais de sua metade, mas decorridos mais cinco minutos, a concentração volta a aumentar, atinge um valor tão alto quanto o do primeiro tempo e volta a cair novamente. Sendo assim, é notável ainda a aleatoriedade dos dados e, conseqüentemente, resultados inconclusivos.

Diante desse cenário, é importante ressaltar ou sugerir que essas variações ou inconsistências nos resultados se devem, possivelmente, ao residual peróxido de hidrogênio utilizado nos experimentos, o qual poderia estar interferindo no método analítico da cromatografia à líquido, mesmo em concentração muito baixa. Ainda assim, existe a possibilidade do material do filtro ter retido a sucralose durante o processo de filtração, o que explicaria a não correlação entre os valores. Também é viável que a sucralose possa estar interagindo com a proteína - catalase - dificultando sua eliminação.

Contudo, os resultados obtidos pelo método colorimétrico (fenol-sulfúrico) são mais consistentes em relação à degradação da sucralose e o sinal analítico. Nos ensaios de peroxidação e fotólise, por sua vez, mostram uma certa constância nos valores de absorvância. Isso indica que a eficiência desses processos isolados para a degradação do composto durante a exposição de uma hora é baixa, uma vez que a concentração da sucralose não diminuiu ao longo do tempo. Já no ensaio de fotoperoxidação, um decaimento da absorvância e, conseqüentemente, da concentração da sucralose é nítido, validando o processo oxidativo avançado como uma forma de decompor a substância estudada.

Vale ressaltar, além disso, que através da equação de reta dada pela curva de calibração (Fig. 03), a concentração inicial da sucralose no ensaio de peroxidação para uma absorvância de 0,325 é de aproximadamente 18 mg/L, enquanto que as concentrações iniciais nos ensaios de fotólise e fotoperoxidação, para absorvâncias de 0,488 e 0,426, são, respectivamente, 27,20 mg/L e 23,71 mg/L. Nesse sentido, a preparação das soluções estoque de sucralose utilizadas ou a aplicação do método sofreram variações experimentais, já que a concentração inicial esperada era de 20 mg/L. Ainda assim, para a fotoperoxidação, entre o tempo inicial e o tempo final (60 min), a concentração de sucralose foi de 23,71 mg/L para -0,14 mg/L, revelando uma alta eficiência na degradação total do composto analisado.

O gráfico de decaimento da sucralose dado pela Figura 04 mostra as concentrações da amostra ao longo do tempo, possibilitado pelo método espectrofotométrico analisado. Nota-se, então, que, para a peroxidação, a sucralose sofreu uma degradação de 9,10% durante uma hora de experimento. Já a fotólise foi responsável pela degradação de 1,87% do composto no mesmo tempo. A sucralose no processo de fotoperoxidação, por sua vez, foi virtualmente 100% decomposta, já que sua concentração apresenta valores negativos após 60 minutos de exposição. Aos 40 minutos de experimento, o composto obteve uma degradação de 99,15%. Destarte, conclui-se que o processo oxidativo mais eficiente para a degradação da sucralose se trata da fotoperoxidação, capaz de decompor o composto por completo. Além disso, observa-se que tanto a peroxidação quanto a fotólise não são eficazes nesse objetivo, ainda que a ação do peróxido de hidrogênio seja mais potente do que da radiação ultravioleta nas condições analisadas.

## BIBLIOGRAFIA

BODÍK, M. et al. Searching for the correlations between the use of different groups of pharmaceuticals from wastewaters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 228, p. 1-7, 2021.

DEMIATE, I. M. et al. Determinação de Açúcares Redutores e Totais em Alimentos. Comparação entre Método Colorimétrico e Titulométrico. Publicatio UEPG: **Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias**, v. 8, n. 01, 2002.

LI, X. et al. Solubility of Sucralose in Different Solvents from (283.15 to 333.15) K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, n. 7, p. 2600–2602, 8 jul. 2010.

SYLVETSKY, A. C.; ROTHER, K. I. Trends in the consumption of low-calorie sweeteners. **Physiology Behavior**, v. 164, p. 446-450, 2016.