

# Determinação espectrofotométrica de ciclamato de sódio em alimentos e bebidas dietéticas e de baixas calorias

## Sodium cyclamate determination in dietetics and low calories foods and beverages by spectrophotometry

RIALA6/1072

Mônica C. R. de CAMARGO\*; Maria Cecília F. TOLEDO

\* Endereço para correspondência: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, CP 6121, Rua Monteiro Lobato, 80 - CEP 13083-862, Campinas, SP, Brasil. e-mail: monicarajo@uol.com.br

Recebido: 21/11/2005 – Aceito para publicação: 31/08/2006

### RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar os teores de ciclamato de sódio em adoçantes de mesa líquido, adoçantes em pó, refrigerantes diet/light, chás diet/light, iogurtes light, néctares light, além de preparados sólidos para refresco light, comercializados na região de Campinas, SP. A determinação deste edulcorante foi feita por espectrofotometria de UV, após sua derivação a N,N-diclorociclohexilamina. A absorbância foi medida em um espectrofotômetro Varian, Modelo Cary 50, a 314 nm usando o ciclohexano como referência. Os teores de ciclamato de sódio variaram de acordo com o produto analisado, situando-se na faixa de 64,9 a 95,0 mg/mL em adoçantes de mesa, 79,0 a 94,4 mg/g em adoçantes em pó, 36,1 a 101,0 mg/100mL em refrigerantes diet/light, 22,7 a 54,0 mg/100mL em chás diet/light, 83,6 a 105,0 mg/100mL em néctares light e de 83,6 a 122,5 mg/100mL em iogurtes light. Em uma única marca de preparado sólido para refresco light analisada, a quantidade média encontrada para o edulcorante foi de 28,2 mg/100 mL. De modo geral, a concentração de ciclamato de sódio não excedeu o limite máximo estabelecido pela legislação brasileira para cada uma das categorias de alimentos estudadas.

**Palavras-Chave.** edulcorantes, ciclamato de sódio, análise de alimentos, alimentos e bebidas de baixa caloria.

### ABSTRACT

The present study was conducted in order to determine sodium cyclamate concentrations in tabletop sweeteners, powdered sweeteners, diet/light soft drinks, diet/light teas, light yogurts, light nectars and dried mixture for light beverages, available in markets of Campinas city. Determination of this sweetener product was performed by ultraviolet spectrophotometry. Sodium cyclamate was quantitatively converted to N,N-dichlorocyclohexylamine, which was determined by measuring its UV absorption at 314 nm. Cyclamate concentration varied according to the analyzed matrix in a range from 64.9 to 95.0 mg/mL in tabletop sweeteners, 79.0 to 94.4 mg/g in powdered sweeteners, 36.1 to 101.1 mg/100mL in diet/light soft drinks, 22.7 to 54.0 mg/100mL in diet/light teas, 8.36 to 105.0 mg/100mL in light nectars, and 83.6 to 122.5 mg/100mL in light yogurts. The unique brand of mixture for beverages available, the mean quantity of this sweetener was 28.2 mg/100 mL. In general, sodium cyclamate concentration in the analyzed samples did not exceed the maximum limit established by the Brazilian Legislation.

**Key Words.** intense sweeteners, sodium cyclamate, food analysis, low calorie products

## INTRODUÇÃO

Os edulcorantes pertencem à classe de aditivos alimentares cuja finalidade é substituir, parcial ou totalmente, os açúcares convencionais usados na elaboração de alimentos e bebidas<sup>1,2</sup>. O uso dessas substâncias começou a se popularizar na década de 60, principalmente nos Estados Unidos.

O ciclamato de sódio foi introduzido em bebidas e alimentos em 1950 e dominou o mercado de edulcorantes artificiais na maior parte dos anos 60, quando seu uso, em combinação com a sacarina, tornou-se bastante comum em bebidas dietéticas. A utilização destes edulcorantes, geralmente na proporção de dez partes de ciclamato para uma de sacarina, resulta em potencialização do sabor doce e, ao mesmo tempo, mascara o sabor amargo residual da sacarina<sup>3</sup>. Segundo Miller<sup>4</sup>, o crescimento do mercado de bebidas dietéticas, graças ao uso do ciclamato, representou um grande incentivo para o desenvolvimento posterior de novos edulcorantes.

No Brasil, até os anos 90, apenas sacarina, ciclamato e aspartame eram utilizados. Hoje, a Legislação Brasileira em vigor<sup>5</sup> aprova para uso em alimentos os edulcorantes naturais sorbitol, manitol, isomalte, esteviosídeo, maltitol, lactitol e xilitol, e os artificiais sacarina, ciclamato, aspartame, acessulfame-K e sucralose<sup>1</sup>.

Em função do maior número de edulcorantes disponíveis no mercado brasileiro e do fato de o uso isolado de cada um deles não proporcionar todas as características desejáveis, a indústria nacional tem utilizado em alimentos e bebidas diferentes combinações de edulcorantes. Nos últimos anos, formulações envolvendo 2 ou 3 edulcorantes, como por exemplo, sacarina, ciclamato e aspartame ou acessulfame-K e aspartame, têm sido encontradas em várias formulações.

O ciclamato de sódio (Figura 1) é aproximadamente 30-60 vezes mais doce que a sacarose e é extremamente estável em uma ampla faixa de pH e temperatura, assim como na presença de luz e oxigênio. Tanto o ácido ciclâmico quanto seus sais apresentam alta solubilidade em água e solubilidade bastante limitada em óleos, gorduras e solventes não polares, como benzeno, clorofórmio e éter.

A legislação nacional especifica limites máximos para o uso do ácido ciclâmico e de seus sais em várias categorias de alimentos e bebidas para fins especiais através da Resolução-RDC nº 3, 2001<sup>5</sup>, conforme apresentado na Tabela 1. Seu uso em adoçantes de mesa, entretanto, não é limitado, uma vez que estes produtos podem conter e serem formulados à base de edulcorantes naturais ou artificiais permitidos pela legislação<sup>6</sup>.

Os ciclamatos de sódio e de cálcio, assim como seu principal metabólito ciclohexilamina (CHA), foram previamente avaliados pelo JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives) em 1967, 1970, 1976, 1977 e 1980. Em

1980, foi atribuída, em caráter temporário, uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0-4 mg/kg de peso corpóreo para o edulcorante e seus sais, tendo em vista os estudos toxicológicos disponíveis na época. Esta IDA foi posteriormente prorrogada, mediante requisição de novos estudos de reprodução e conversão. Em 1982, o caráter temporário foi retirado e o valor da IDA aumentado para 0-11 mg/kg peso corpóreo (para os sais de cálcio e sódio, expressos como ácido ciclâmico). Para o cálculo deste valor de IDA, o JECFA considerou o NOEL (No Observed Effect Level) de 100 mg/kg peso corpóreo, relativo ao efeito de atrofia testicular em ratos, identificado para a CHA, e assumiu que 63% do ciclamato absorvidos estão disponíveis para a conversão a este metabólito, com taxa média de conversão de 30%<sup>2</sup>.

Ao longo de toda a sua história de uso como aditivos para alimentos, a sacarina e o ciclamato têm sido alvo de controvérsias quanto à sua segurança, uma vez que estudos toxicológicos efetuados no passado associaram estes edulcorantes com a ocorrência de tumores na bexiga urinária de roedores. Como conseqüência, existe uma preocupação pública constante com relação à ingestão desse e de outros edulcorantes, principalmente por grupos específicos da população como crianças, diabéticos e obesos.

Internacionalmente, recomenda-se que os países controlem a exposição de sua população a estes aditivos, através da realização periódica de estimativas de ingestão, de forma a assegurar ingestões dentro de valores considerados seguros. O presente estudo foi conduzido com o objetivo de analisar e quantificar os níveis de ciclamato em produtos dietéticos disponíveis comercialmente como adoçantes de mesa líquido, adoçantes em pó, refrigerantes *diet/light*, chás disponíveis comercialmente como adoçantes de mesa líquido, adoçantes em pó, refrigerantes *diet/light*, néctares *light*, preparado sólido para refresco *light* e iogurtes *light*, para então estimar a contribuição destes produtos como fonte de ciclamato na dieta.

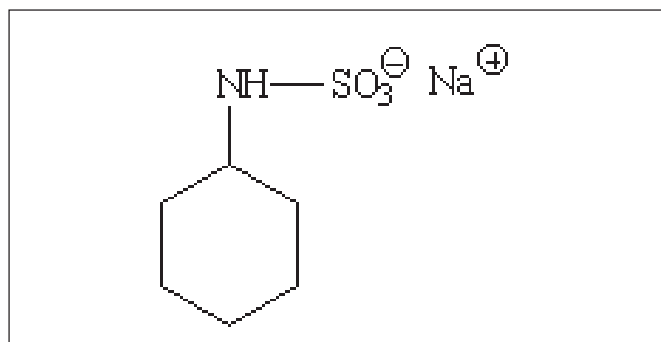


Figura 1. Estrutura química do ciclamato de sódio.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

Dois lotes de cada um dos diferentes produtos abaixo relacionados foram adquiridos no comércio da cidade de Campinas, SP, no decorrer dos anos de 2003 e 2004, totalizando 58 amostras. Somente foram selecionados e analisados aqueles produtos em cujo rótulo estava declarada a presença do ciclamato. São eles:

- adoçante de mesa líquido (10 marcas);
- adoçante em pó (2 marcas);
- néctar de fruta *light* (manga e uva);
- preparado sólido para refresco *light* (limão);
- refrigerante *light* (cola, laranja e guaraná);
- refrigerante *diet* (guaraná, tônica, limão A e limão B);
- chá (mate limão *light*, mate *diet* e mate *light*);
- iogurte de morango *light* (4 marcas)

### Metodologia

O método utilizado para a determinação de ciclamato de sódio em diferentes matrizes foi aquele desenvolvido por Sjoberg e Alanko<sup>7</sup>, como descrito a seguir:

### Preparação das amostras

Pesou-se uma quantidade de amostra suficiente para conter 1-20 mg de ciclamato de sódio e transferiu-se para um funil de separação (A), adicionando-se a seguir 100 mL de água. No caso de refrigerantes, primeiramente a amostra foi degaseificada em banho de ultrassom por 15 minutos. A solução (A) foi acidificada com 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, agitando-se e resfriando-se a mesma. Adicionaram-se 100 mL de acetato de etila, agitou-se a mistura por 2 minutos e separou-se a fase orgânica da fase aquosa. Em seguida, tomou-se uma alíquota de 80 mL da fase de acetato de etila e transferiu-se para outro funil de separação (B). Extraiu-se com três porções de 30 mL de água e as fases aquosas foram combinadas em um outro funil de separação (C). Adicionaram-se 2 mL de NaOH 10M e 10 mL de ciclohexano e agitou-se o extrato por 1 minuto. A fase aquosa alcalina foi transferida para um funil de separação (D).

### Reação de derivação e determinação

No funil de separação (D), adicionaram-se 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O (3:7, v/v), 10 mL de ciclohexano e 10 mL de hipoclorito de sódio sucessivamente. Agitou-se a mistura por 2 minutos, escoando-se a fase aquosa e agitando-se a fase orgânica com 50 mL de NaOH 0,5M por 1 minuto. Em seguida, a fase aquosa alcalina foi escoada e a fase orgânica foi lavada com 50 mL de água, descartando-se a fase aquosa. O espectro da fase orgânica foi medido em um espectrofotômetro Varian, Modelo Cary 50, a 314 nm usando o ciclohexano como referência. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

### Quantificação e construção da curva de calibração

A quantificação de ciclamato de sódio foi feita através da curva de calibração, obtida a partir de uma solução estoque do padrão de ciclamato de sódio de 0,8 mg/ml. Para tanto, pipetaram-se 2,0; 5,0; 10; 15; 20 e 25 mL da solução mãe (contendo 1; 6; 4; 8; 12; 16 e 20 mg de ciclamato de sódio) em um balão volumétrico e completou-se com 100 mL de água. Cada uma dessas soluções foi transferida para um funil de separação e procedeu-se como descrito para as amostras começando-se na etapa "Acidificar a solução com 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.....". As determinações foram feitas em duplicata e foram lidas em um espectrofotômetro UV a 314 nm. O limite de detecção (expresso como concentração) foi determinado de acordo com Miller & Miller<sup>8</sup>.

### Recuperação

Os testes de recuperação foram feitos adicionando-se quantidades conhecidas de ciclamato de sódio, em três diferentes concentrações (0,04, 0,08 e 0,12 mg/mL), em amostras selecionadas dentre os grupos de produtos avaliados (adoçante de mesa líquido, néctar de uva *light*, refrigerante de cola *light*, chá de limão *light* e iogurte de morango *light*). As análises das amostras fortificadas, assim como dos controles (branco), foram feitas em duplicata. As recuperações foram calculadas pela diferença entre os valores totais obtidos para o ciclamato de sódio nas amostras fortificadas e não fortificadas. Os resultados analíticos

**Tabela 1.** Níveis de ácido ciclâmico e seus sais de cálcio, potássio e sódio autorizados para uso em alimentos e bebidas no Brasil<sup>1</sup>.

Alimento/bebida	Limite Máximo g/100g ou g/100 mL
Alimentos e bebidas para controle de peso	0,13
Alimentos e bebidas para dietas com ingestão controlada de açúcares	0,13
Alimentos e bebidas para dietas com restrição de açúcares	0,13
Alimentos e bebidas com informação nutricional complementar	0,13
Alimentos e bebidas com reduzido teor de açúcares	0,097

<sup>1</sup> Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 3 de 2 de janeiro de 2001<sup>5</sup>.

reportados não foram corrigidos em função da porcentagem de recuperação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a determinação de ciclamato de sódio nos produtos selecionados utilizou-se o método descrito por Sjoberg & Alanko<sup>7</sup>. De acordo com o procedimento original, a determinação de ciclamato de sódio foi feita por espectrofotometria de UV, após sua derivação a N,N-diclorociclohexilamina, uma vez que a molécula deste edulcorante não possui cromóforo e, portanto, não absorve na região do UV/visível. O derivado, quantitativamente formado pela adição de acetato de etila e hipoclorito de sódio ao extrato acidificado contendo o ciclamato, é então determinado espectrofotometricamente a 314 nm.

O procedimento de extração adotado mostrou-se satisfatório para a análise do ciclamato nas diferentes matrizes

selecionadas, não sendo necessário modificar qualquer etapa do procedimento original. Os valores médios de recuperação obtidos (Tabela 2) se situaram na faixa de 84 a 101%, com coeficiente de variação máximo de 7,4 %, dentro dos limites aceitos para análise de aditivos em níveis de mg<sup>9</sup>. O limite de detecção para o ciclamato foi de 0,02 mg/mL. Para algumas matrizes, como foi o caso do iogurte, a estimativa de desvio padrão em torno da média foi maior, o que representa uma maior variabilidade nos valores de recuperação obtidos nos níveis de fortificação utilizados.

Embora o método de Sjoberg & Alanko<sup>7</sup> tenha sido reproduzível, o tempo necessário para sua execução é relativamente longo, o que o torna inviável para análises em grande escala, sendo, no entanto, satisfatório para ser utilizado em análises de rotina em laboratórios de controle de qualidade.

As Tabelas 3, 4 e 5 apresentam os teores de ciclamato de sódio nos alimentos estudados. A concentração deste edulcorante nas diferentes amostras se situou na faixa de 64,9

**Tabela 2.** Recuperação do ciclamato em diferentes grupos de alimentos.

Produto	Recuperação <sup>1</sup> média (%)			Recuperação	CV (%) <sup>2</sup>
	Nível 1	Nível 2	Nível 3		
Adoçante de mesa líquido	99	100	105	101	3,1
Néctar <i>light</i> sabor uva	95	98	99	98	2,0
Mate limão <i>light</i>	85	82	84	84	2,1
Refrigerante de cola <i>light</i>	89	91	96	92	4,1
Iogurte de morango <i>light</i>	72	83	76	77	7,4

<sup>1</sup> Nível 1: 0,04 mg/mL; Nível 2: 0,08 mg/mL; Nível 3: 0,12 mg/mL

<sup>2</sup> CV: Coeficiente de Variação

**Tabela 3.** Níveis médios de ciclamato de sódio em adoçantes de mesa e adoçantes em pó.

Produto/marca	Valor determinado (mg/mL) <sup>1</sup>	Valor nominal (mg/mL)
<b>Adoçantes de mesa líquido</b>		
A	78,4	83,0
B	78,5	-
C	64,9	-
D	95,0	-
E	82,4	-
F	89,3	83,0
G	70,9	-
H	80,2	-
I	91,6	-
J	85,2	-
<b>Adoçantes em pó</b>		
K	94,37	-
L	79,00	-

<sup>1</sup> média de 2 determinações

-: não declarado

**Tabela 4.** Níveis médios de ciclamato de sódio em bebidas não alcoólicas.

Produto/marca (mg/100mL) <sup>1</sup>	Valor determinado	Valor nominal (mg/100mL)
<b>Refrigerantes Light</b>		
Cola	75,1	69,7
Laranja	73,5	64,0
Guaraná	36,1	31,0
<b>Refrigerantes Diet</b>		
Guaraná	38,5	32,0
Tônica	69,0	55,0
Limão A	101,1	107,0
Limão B	60,5	69,7
<b>Chás</b>		
Mate limão <i>light</i>	29,4	23,0
Mate <i>diet</i>	54,0	50,0
Mate <i>Light</i>	22,7	25,0
<b>Néctar de fruta light</b>		
Manga	105,0	96,0
Uva	83,6	96,0
<b>Preparado sólido para refresco light</b>		
Limão	28,2	22,0

<sup>1</sup> média de 2 determinações

**Tabela 5.** Níveis médios de ciclamato de sódio em iogurtes de morango *light*.

Produto/marca	Valor determinado (mg/100mL) <sup>1</sup>	Valor nominal (mg/100mL)
A	95,5	-
B	122,5	-
C	83,6	-
D	101,2	-

<sup>1</sup> média de 2 determinações

-: não declarado

a 95,0 mg/mL em adoçantes de mesa líquido, 79,0 a 94,4 mg/g em adoçantes em pó, 36,1 a 101,0 mg/100mL em refrigerantes *diet/light*, 22,7 a 54,0 mg/100mL em chás *diet/light*, 83,6 a 105,0 mg/100mL em néctares *light* e de 83,6 a 122,5 mg/100mL em iogurtes *light* de morango. Em uma única marca de preparado sólido para refresco *light* analisada, a quantidade média encontrada para o edulcorante foi de 28,2 mg/100 mL.

Como pode ser observado, houve variação nas quantidades de ciclamato de sódio entre amostras de diferentes marcas para um mesmo produto. As diferenças apresentadas se devem ao fato de que em função do maior número de edulcorantes disponíveis hoje no mercado brasileiro, a indústria nacional tem utilizado em alimentos e bebidas diferentes combinações desses edulcorantes.

Em função de alguns produtos declararem no rótulo a quantidade de ciclamato adicionada, foi possível

correlacionar essas quantidades àsquelas determinadas analiticamente. Tal comparação permitiu observar que existe uma boa correlação entre os dados analíticos e os valores nominais das embalagens.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicam que a quantidade de ciclamato presente nos alimentos e bebidas de baixa caloria analisados atende ao limite máximo estabelecido pela legislação vigente. Estas informações, juntamente com o levantamento de dados de consumo dos alimentos em questão serão utilizadas para estimar a ingestão de ciclamato de sódio pela população de Campinas, SP e avaliar a contribuição destes alimentos como fonte deste edulcorante na dieta.

## AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pela concessão de auxílio financeiro à pesquisa, Processo 02/05471-7.

## REFERÊNCIAS

1. Henin N. Intake of sweeteners, physiological and nutritional aspects. *Int Sugar J*. 2001; 103: 346-51.
2. Toledo MCF. Aditivos Alimentares. In: Oga S, editor. *Fundamentos de Toxicologia*. São Paulo: Ed Atheneu; 1996. p.405-39.
3. Bopp BA, Price P. Cyclamate. In: Nabors LOB, editor. *Alternative Sweeteners* 3<sup>rd</sup> ed. New York: Marcel Dekker Inc.; 2001. p.63-85.
4. Miller WT. The legacy of cyclamate. *Food Technol*. 1987; 41:116.
5. Brasil. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 3, de 2 de jan. 2001 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, Poder Executivo, DF, 3 jan 2001.
6. Brasil. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 271, de 22 de set. 2005 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 set. 2005.
7. Sjöberg AMK, Alanko TA. Spectrophotometric determination of cyclamate in foods: Nordic Committee on Food Analysis Collaborative Study. *J Assoc Off Ana Chem*, 1987; 70: 588-90.
8. Miller JC, Miller JN. *Statistics for Analytical Chemistry*. 3<sup>rd</sup> ed. Chicago (IL): Ellis Horwood Limited Publishers; 1993. p. 101-39.
9. Horwitz W, Laverne RK; Boyer KW. Quality Assurance in the analyses of foods for trace constituents. *J Assoc Anal Chem*, 1980; 63: 1344-54, 1980.