

A aplicação de multi-isótopos para controle de qualidade: ácido tartárico**The application of multi-isotopes for quality control: tartaric acid**

DOI:10.34115/basrv4n6-042

Recebimento dos originais: 19/10/2020

Aceitação para publicação: 13/11/2020

Glauca Danielle Leirose

Formação acadêmica mais alta: doutorado

Instituição de atuação atual: Universidade Federal de Minas Gerais

Endereço completo: Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte | Bloco 4, Sala 2299 | CEP 31270-901

Email: danileirose@gmail.com

Marie Florence Grenier Loustalot

Formação acadêmica mais alta: doutorado

Instituição de atuação atual: Universidade Federal de Minas Gerais

Endereço completo: Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte | Bloco 4, Sala 2299 | CEP 31270-901

Arno Heeren de Oliveira

Formação acadêmica mais alta: doutorado

Instituição de atuação atual: Universidade Federal de Minas Gerais

Endereço completo: - Traverse Dupont, 4, Grasse, França

RESUMO

Substâncias naturais são a base de diversos tipos de indústrias. Elaborados a partir dessas substâncias, os produtos naturais tiveram um forte crescimento de sua fabricação na última década. Dois fatores podem ser destacados como justificativa: mudança nas leis regulamentarias que exigem comprovação da origem natural de matérias primas e aumento da demanda do consumidor por produtos orgânicos. Todavia, estes produtos apresentam elevados custos de produção e/ou dificuldade de obtenção. Além disso, a indústria química sintética tem inovado em seus processos de produção e expandido o número de compostos com alta similaridade aos naturais. Como resultado, produtos naturais estão expostos a diversos tipos de fraudes, como: origem geográfica, origem natural e adição de substâncias não nobres. A globalização do mercado de alimentos e a relativa facilidade com que alimentos são transportados entre países e continentes geram uma preocupação em órgãos fiscalizadores para garantir a qualidade e segurança dos produtos que chegam aos consumidores. O uso de técnicas analíticas é uma eficaz opção para monitoração. No caso do ácido tartárico as propriedades físico-químicas do produto natural e sintético são praticamente idênticas. A variação da razão de isótopos estáveis permite a investigação da origem deste ácido, já que esses dados fornecem um perfil das amostras. Medições de isótopos de carbono, oxigênio e hidrogênio fornecem informações sobre origem geográfica e método de produção. Este artigo revisa a aplicação de multi-isótopos no emergente campo da forense de alimentos, focando no caso do ácido tartárico.

Palavras chave: ácido tartárico, multi-isótopos, IRMS.

ABSTRACT

Natural substances are the basis of several types of industries. Elaborated from these substances, the natural products had a strong growth of its production on the last decade. Two factors can be detached as justification: change on the regulatory laws that demands proof of the natural origin of raw materials and increase on the consumer's demand for organic products. However, these products present high production costs and/or difficulty in obtaining them. Moreover, the synthetic chemical industry has innovated in its production processes and expanded the number of compounds with high similarity to natural ones. As a result, natural products are exposed to several types of fraud, such as: geographical origin, natural origin and the addition of non-noble substances. The globalization of the food market and the relative ease with which food is transported between countries and continents generate a concern in supervisory bodies to ensure the quality and safety of products that reach consumers. The use of analytical techniques is an effective option for monitoring. In the case of tartaric acid the physical-chemical properties of the natural and synthetic product are practically identical. The variation in the ratio of stable isotopes allows the investigation of the origin of this acid, since these data provide a profile of the samples. Measurements of carbon, oxygen and hydrogen isotopes provide information on geographical origin and production method. This article reviews the application of multi-isotopes in the emerging field of food forensics, focusing on the case of tartaric acid.

Key words: tartaric acid, multi-isotopes, IRMS.

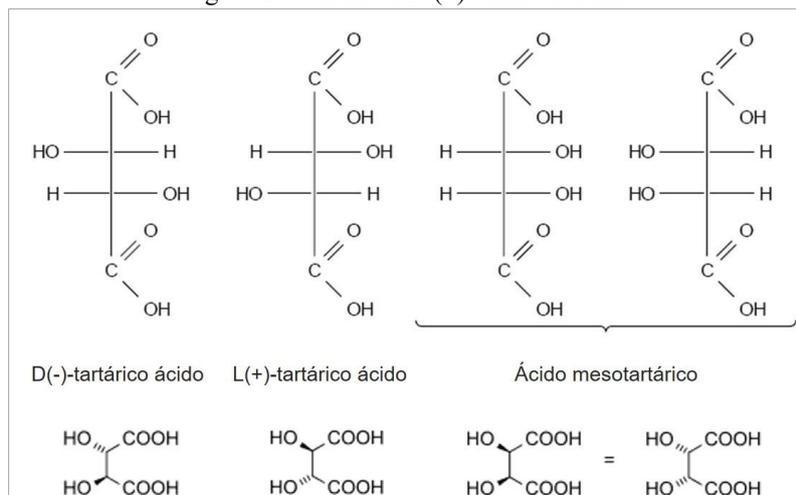
1 INTRODUÇÃO

A comercialização de alimentos ocorre cada vez mais de maneira mundial. Atualmente, produtos específicos de uma região tem sido encontrados em diversas partes do mundo. Isso aumenta a preocupação do consumidor com relação a qualidade do produto que ele está consumindo. A garantia de origem de um produto é outro ponto muito requisitado por consumidores [1]. Associado a esta origem estão patriotismo, qualidades organolépticas e culinária específica, que agregam valor a esses artigos [2]. A legislação deve acompanhar as preocupações dos consumidores, garantindo que o produto embalado seja o descrito no rótulo. A regulamentação europeia e da Organização Internacional da Vinha e do Vinho (OIV) exige que o ácido tartárico usado no vinho tenha procedência exclusiva da uva [3]. Estudos anteriores buscaram diferenciar a origem do ácido tartárico, tanto com relação as diferentes origens naturais possíveis quanto com a origem sintética. Diversas técnicas analíticas já foram utilizadas com este objetivo, porém a mais promissora foi a análise isotópica.

1.1. ÁCIDO TARTÁRICO

É um ácido orgânico natural encontrado na fermentação de polpa de frutas, especialmente uva e tamarindo. É um composto estável e, quando isolado, é um sólido branco cristalino, sem odor e solúvel em água. Por conter dois grupos carboxila, seu pH é baixo, aproximadamente 1,6. Isso confere um forte sabor ácido nesta substância [4]. Este é um composto de fórmula molecular $C_4H_6O_6$. Essa molécula apresenta dois átomos de carbono assimétricos e quatro formas estereoisoméricas, como pode ser observado na Fig. 1.

Fig. 1. Estruturas do L-(+)-ácido tartárico.



Duas formas são opticamente ativas, L(+)-ácido tartárico e D(-)-tartárico ácido, também chamadas de ácido levo-tartárico e ácido dextro-tartárico, respectivamente. A diferença entre eles é a direção de rotação da luz quando em solução. Os sinais, positivo e negativo, foram adotados por convenção. Eles são enantiômeros, ou seja, moléculas assimétricas e imagem-espelho um do outro. A terceira forma é opticamente inativa, o ácido tartárico racêmico é uma mistura de partes iguais dos ácidos levo-tartárico e dextro-tartárico. Última e aquiral forma, ácido mesotartárico apresenta plano de simetria e também é opticamente inativo [5]. O ácido tartárico obtido naturalmente ou sinteticamente está na forma L(+). A forma racêmica também pode ser produzida industrialmente. Já a forma D (-) é rara e não tem aplicações [6].

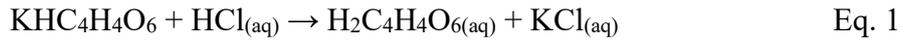
O L(+)-ácido tartárico é uma substância amplamente utilizada na indústria alimentar e farmacêutica. É um importante regulador de acidez e contribui no controle de microrganismos. Além disso, ele influencia diretamente no acidez do vinho, importante parâmetro para este produto [7, 8].

1.2 PRODUÇÃO

Existem basicamente três métodos para obtenção do ácido tartárico: natural como um subproduto do vinho, síntese química e síntese biotecnológica.

1.2.1 Produção natural

Normalmente, o ácido tartárico está presente no processo de fabricação do vinho na forma de sais, bitartarato de potássio e tartarato de cálcio, em menor quantidade. A produção inicia com a neutralização da matéria prima. Ácido clorídrico é adicionado para aumentar a solubilidade do bitartarato de potássio, Eq. 1. A acidificação máxima é alcançada no pH 4,5. Em seguida, solução de carbonato de cálcio ou de hidróxido de cálcio é adicionada lentamente para precipitar o tartarato de cálcio, Eq. 2 [9].



O tartarato de cálcio é separado da solução por centrifugação. Por fim, o tartarato de cálcio é convertido em ácido tartárico pela adição de ácido sulfúrico, Eq. 3. O sulfato de cálcio formado é insolúvel em água e é retirado por filtração.



A solução de ácido tartárico é concentrada e lentamente resfriada para cristalização. Após a secagem, obtêm-se ácido tartárico com grau de pureza de cerca de 99,9% [10].

1.2.2 Síntese química

Um método de produção de ácido tartárico em larga escala foi descrito por Church em 1951 [11]. A síntese é feita a partir do ácido maleico, um subproduto da extração de petróleo. Este ácido é hidroxilizado pelo peróxido de hidrogênio, tendo o óxido de tungstênio como catalisador, Eq. 4. É formado um composto intermediário, o ácido epóxi succínico, que é hidrolizado para formar o ácido tartárico, Eq. 5.



Em seguida, a solução é cristalizada em baixa temperatura, centrifugada e seca, obtendo-se então o ácido tartárico sólido.

1.2.3 Síntese biotecnológica

Esta síntese é baseada na conversão ácido cis-epóxi succínico em L(+)-ácido tartárico. O ácido cis-epóxi succínico é um derivado do ácido maleico, ou seja, é um derivado do petróleo. Uma enzima capaz de hidrolizar o grupo epoxi é utilizada no processo. Ela pode vir de diferentes espécies como *Nocardia*, *Acetobacter*, *Corynebacterium*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Pseudomonas* e *Rhodococcus* [12].

Neste método um microorganismo é incubado em um meio de cultura, então uma solução de sal epóxi succínico é adicionada. Se o sal não contem cálcio, cloreto de cálcio ou outro sal de cálcio deve ser acrescentado. A enzima presentes neste microorganismo é capaz de hidrolizar o sal epóxi succínico

em L(+)-tartarato de cálcio com alta seletividade. O tartarato de cálcio formado é separado por filtração. A recuperação do tartarato de cálcio em ácido tartárico é feita em resina de troca iônica [13]. As vantagens deste processo são o baixo custo, abundância de matéria prima e alta seletividade da biotransformação.

1.3 ABUNDÂNCIA ISOTÓPICA

A abundância isotópica dos principais elementos da matéria orgânica foi fixada na formação da Terra, e, em escala global, esses valores têm permanecido os mesmos. Os principais elementos mensurados são carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, enxofre e estrôncio. Processos biológicos, químicos e físicos podem provocar sutis variações na composição isotópica dos materiais [14].

Na área alimentícia a análise da abundância isotópica fornece importantes informações que colaboram no controle de qualidade desses produtos. Por exemplo, a razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) em plantas varia de acordo com sua via de absorção de CO_2 . Plantas que utilizam o caminho C3 na fotossíntese são predominantes em altas altitudes, de zonas frias ou temperadas. Já as plantas de via C4 tem faixa de razão isotópica diferente, geralmente mais enriquecida de ^{13}C , e são típicas de climas quentes e baixas altitudes. Existe uma diminuição da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dos equador para os polos. Já oxigênio e hidrogênio sofrem processos semelhantes de fracionamento já que possuem como principais fontes chuvas meteóricas e marinhas [1]. As razões $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ e $^2\text{H}/^1\text{H}$ são fortemente influenciadas pela altitude. A diminuição de temperatura e a evaporação de água do oceano são processos que reduzem a precipitação de isótopos pesados. Consequentemente, a razão isotópica desses elementos decresce em direção da costa para o continente e do equador para os polos [2]. Sendo o ácido tartárico composto de oxigênio, carbono e hidrogênio a análise destes elementos é capaz de fornecer importantes dados sobre método de produção e origem geográfica deste produto.

2 ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE RAZÕES ISOTÓPICAS

A espectrometria de massas de razões isotópicas (IRMS) é utilizada na medição da abundância relativa de isótopos em diferentes materiais. Variações na abundância natural de isótopos são calculadas usando a notação delta (δ), de acordo com a equação 6:

$$\delta = \left(\frac{R_{amostra}}{R_{referência}} - 1 \right) \times 1000 \quad \text{Eq. 6}$$

onde δ é o desvio das razões isotópicas relativamente a substâncias de referência ou padrão, $R_{amostra}$ e $R_{referência}$ corresponde à razão isotópica entre o isótopo estável mais pesado e o isótopo estável mais leve da amostras e da referência, respectivamente. Esta análise é muito precisa, geralmente com variações na

terceiro ou quarto algarismo significativo, por isso a necessidade da multiplicação final, convertendo em por mil [14].

Geralmente, esta técnica é rápida e de fácil preparação de amostras. Toda a instrumentação do espectrômetro de massa de razões isotópicas é similar a um espectrômetro de massas comum. O IRMS é projetado para medir precisamente pequenas diferenças de abundância isotópica de $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$. A amostra é convertida em gases simples como H_2 , CO_2 e CO e ingressa no aparelho simultaneamente com um gás padrão. Em seguida, já no espectrômetro de massas, as moléculas gasosas são ionizadas através da interação com um feixe de elétrons. Os íons são centrados e acelerados por um campo de alta voltagem. A escolha da força do campo magnético e voltagem de aceleração é feita de acordo com a relação carga/massa (m/z) dos íons analisados. Por exemplo, no caso do CO_2 , os dados compreendem três traços de íons: $^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$, $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ e $^{12}\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}$, de respectivas m/z 44, 45 e 46. Os íons são registrados simultaneamente por um múltiplo detector copo de Faraday [15]. Os dados obtidos são amplificados e registrados, as áreas dos picos formados são integradas quantitativamente e a razão isotópica é calculada.

3 DISCUSSÃO

Análise de multi-isótopos por IRMS é bem conhecida e definida para controle de adulteração de diversos alimentos, como vinho, carne bovina, queijo, leite, café, chá e suco de laranja [2]. O estudo desta técnica para estudo do ácido tartárico é recente, porém vem mostrando resultados promissores. Serra [16] analisou a abundância isotópica de carbono e oxigênio em amostras de ácido tartárico, buscando identificar se eram naturais ou sintéticos e local de origem. Ele obteve boa separação entre os ácidos naturais e sintéticos, porém a separação por geográfica por países contou com poucas amostras. Rojas [17] estudou ácidos tartáricos produzidos a partir de mosto de uva, tamarindo de diversos países e sintéticos. Foram medidos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ e $^2\text{H}/^1\text{H}$. Somente os valores de carbono e oxigênio já foram suficientes para identificação da fonte do ácido tartárico. Com a adição dos dados de abundância isotópica do hidrogênio foi possível separar também as amostras sintéticas.

4 CONCLUSÃO

A ampliação do controle de qualidade de alimentos deve estar sempre em foco, já que garante a qualidade e segurança de produtos de consumo direto do consumidor. Devido a sua grande aplicação e utilização, o estudo do ácido tartárico deve ser aprofundado. Trabalhos encontrados na literatura apontam um caminho promissor para a análise desta substância, porém um maior número de amostras devem ser analisadas. E também deve-se variar sua origem geográfica. Em adição, a análise dos produtos derivados do ácido tartárico é uma importante complementação para este tipo de produto.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Ao European Research Institute on Natural Ingredients (ERINI). À CAPES.

REFERÊNCIAS

- [1] S. Kelly et al., “Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis”, *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 16, n. 12, pp. 555-567 (2005).
- [2] C. Cordella et al., “Recent Developments in Food Characterization and Adulteration Detection: Technique-Oriented Perspectives”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50, n. 7, pp. 1751-1764, (2002).
- [3] OIV. “OIV Wine & Vine Outlook (2010-2011)”, Organisation Internationale de la vigne et du vin, Paris, (2014).
- [4] Miranda, V. A. C. “Ácido Tartárico como Molécula de Partida para a Síntese de Moléculas Quirais”, Dissertação, Departamento de Química e Bioquímica da Universidade de Lisboa, Portugal (2012).
- [5] G. T. W. Solomons and C. B. Fryhle, “Química Orgânica”, 10ª ed., Rio de Janeiro, Ed. LTC, (2012).
- [6] G. T. Blair and J. J. DeFraties, “Hydroxy Dicarboxylic Acids”, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, Ed. John Wiley & Sons, Inc., (2000).
- [7] Van Nostrand's Scientific Encyclopedia. “Tartaric Acid”, Ed. John Wiley & Sons, Inc., (2005).
- [8] Agricultural Marketing Service – United States Department of Agriculture. “Tartaric Acid”, Ed. Agricultural Marketing Service, USA (2011).
- [9] Braga, F. G. “Valorização Industrial de Subprodutos Vinícolas - Produção de ácido tartárico e de corantes a partir das borras e dos bagaços”, Tese, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Portugal (2002).
- [10] Basaran, T. Y. “Ion Exchangers in The Recovery of Tartaric Acid From Aqueous Solutions”, Tese, Graduate Scholl of Natural and Applied Sciences da Middle East Technical University Ankara, Turquia (2006).
- [11] J. M. Church and R. Blumberg, “Synthesis of Tartaric Acid - by the hidroxylation of maleic acid”, *Industrial and Engineering Chemistry*, Vol.. 43, n. 8, pp. 1780-1786, (1951).
- [12] Z. Wang et al., “Improvement of the Production Efficiency of l-(+)-Tartaric Acid by Heterogeneous Whole-Cell Bioconversion”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 172, n. 8, pp. 3989-4001 (2014).

- [13] J. M. Kassaian. "Tartaric Acid - Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry", Ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA (2000).
- [14] Ferreira, A. I. A. J. V. "Espectrometria de Massa de Razões Isotópicas", Tese, Departamento de Química e Bioquímica da Universidade de Lisboa, Portugal (2008).
- [15] W. Meier-Augenstein, "Applied gas chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, Vol. 842, n. 1–2, pp. 351-371, (1999).
- [16] F. Serra et al., "¹³C and ¹⁸O isotopic analysis to determine the origin of L-tartaric acid", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, Vol. 19, n. 10, pp. 1227-1230 (2005).
- [17] J. M. M. Rojas et al., "Control of oenological products: discrimination between different botanical sources of L-tartaric acid by isotope ratio mass spectrometry", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, Vol. 21, n. 15, pp. 2447-2450 (2007).