

ANÁLISE DA BIOTINA EM AMOSTRAS DE VITAMINAS COMERCIAIS E MANIPULADA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO FTIR-UATR

Silva, I.C. F.; Cho, L.Y.; Sakane, K. K.

Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – Universidade do Vale do Paraíba
Avenida Shishima Hifumi nº 2911, Urbanova, São José dos Campos, São Paulo
CEP 12244-000
isabellsilva@hotmail.com

Resumo – A biotina, também conhecida como vitamina H, é uma vitamina importante aos organismos vivos, necessária no metabolismo das proteínas e dos carboidratos, ela age diretamente na formação da pele. É uma vitamina hidrossolúvel. As principais fontes alimentares de biotina são frutas, nozes, ovos, carnes, leite e levedura. A carência de biotina no homem apesar de rara pode causar dermatite esfoliativa, conjuntivite, descoloração da pele e mucosas, furunculose, seborreia do couro cabeludo e dores musculares. O presente trabalho se propõe a analisar qualitativamente, por espectroscopia no infravermelho, amostras de vitaminas comerciais e manipulada que contenham a biotina. Nas amostras avaliadas foram verificadas que a espectroscopia no infravermelho é viável mesmo para amostras com uma concentração pequena de princípio ativo.

Palavras-chave: Biotina, vitamina H, Espectroscopia no Infravermelho.

Área do Conhecimento: Ciência da saúde.

Introdução

Vitaminas são substâncias essenciais ao metabolismo dos seres vivos, sendo requeridas em quantidades bem pequenas e não são sintetizadas pelos mesmos. E atuam como agentes essenciais ativos para manutenção das funções biológicas, podendo ocorrer na natureza como tal, ou sob a forma de precursores, provitaminas, que são ingeridas através dos alimentos.

A carência destas vitaminas pode ser originada tanto pela falta de alimentos (populações carentes) ou por uma dieta mal equilibrada. No caso dos países ditos desenvolvidos uma grande maioria também padece deste mal devido à alimentação inadequada provocada, dentre outros fatores, pelo ritmo estressante da vida moderna e também devido à ingestão de doses excessivas de medicamentos que inibem a ação das vitaminas no organismo (ANICETO et al, 2000).

A biotina, também conhecida como vitamina H, vitamina B7 ou vitamina B8, é uma molécula da classe das vitaminas que funciona como cofator enzimático. Necessária no metabolismo das proteínas e dos carboidratos, ela age diretamente na formação da pele e indiretamente na utilização dos hidratos de carbono (açúcares e amido) e das proteínas. Tem como principal função neutralizar o colesterol (diretamente ligado à obesidade). É uma vitamina hidrossolúvel. A biotina tem a fórmula química $C_{10}H_{16}O_3N_2S$ e suas principais fontes alimentares são frutas, nozes, ovos, carnes, leites e leveduras. Também é produzida por bactérias intestinais. (FRANCO, 2004).

A carência desta vitamina no organismo humano apesar de rara, pode ser observada em casos de má nutrição, deficiência da biotinidase e das carboxilases. A biotinidase é uma enzima responsável pela quebra da ligação complexo biotina-proteína proveniente da dieta ou de peptídeos (biocitina) fornecendo biotina livre no organismo. Assim, pacientes com esta deficiência são incapazes de usar a biotina ligada às proteínas da dieta, conseqüentemente a biotina é perdida na urina. A deficiência dessa vitamina pode causar dermatite esfoliativa, conjuntivite, descoloração da pele e mucosas, furunculose, seborreia do couro cabeludo e dores musculares. Segundo Zerzanova et al (2007), a dose diária de ingestão definida para biotina é cerca de 30 a 100 μg /dia, suficiente para manter o cabelo saudável, a pele, glândulas, tecido nervoso e ossos.

No Brasil, a ANVISA liberou a comercialização da biotina somente em associação de polivitamínicos, em doses abaixo das recomendadas para o tratamento de biotinidase. A sua comercialização na forma isolada (sem associações a outras substâncias) é obtida somente em farmácias de manipulação.

A biotina é um ativo ácido orgânico, sendo sua forma ativa a d-isômero. Sua estrutura química pode ser visualizada na Figura 1.

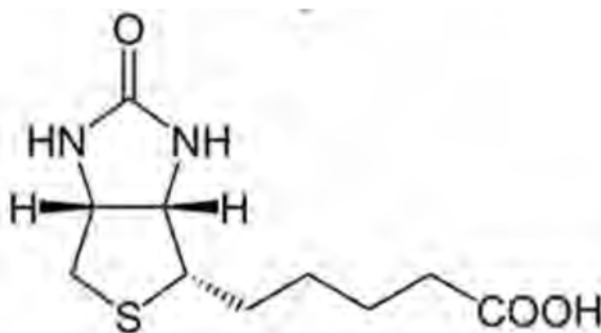


Figura 1: Estrutura química da biotina. Fonte: Gonçalves (2010).

As técnicas analíticas para a determinação da biotina podem ser divididas em quatro categorias principais (ZERZANOVA et al, 2007):

1 - Métodos microbiológicos, com base no crescimento de microrganismos em presença de biotina, muito sensível, demorado e apresenta baixa especificidade. Este método é utilizado para determinar biotina em baixas concentrações. O microrganismo requer biotina para o seu crescimento e reprodução. Este é incubado junto a diluição de amostras. O consequente aumento de turbidez do extrato é medido e correlaciona-se com o conteúdo de biotina da amostra. Porém pode haver algumas interferências na determinação de biotina pois os microrganismos podem ser inibidos por certos antibióticos e metais pesados.

2 - Técnicas biológicas baseadas no desenvolvimento animal. Estas são usadas principalmente para a determinação de biotina em gêneros alimentícios.

3 - Ensaio de ligação: fazem uso da formação de complexos proteicos como por exemplo avidina específica ou estreptavidina que quando associada a biotina pode reduzir sua disponibilidade e provocar complicações na investigação do analito.

4 - O último grupo inclui todos os métodos físico-químicos tais como: titulação potenciométrica, espectrofotometria, polarografia, cromatografia em camada fina, cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência e zona eletroforese (ZERZANOVA et al, 2007).

Assim, o presente trabalho adotou a espectroscopia no infravermelho FTIR por apresentar uma metodologia simples, rápida e de baixo custo, que permite a identificação das composições, tornando-se atrativo para pesquisas realizadas em diferentes áreas industriais que trabalhem com a biotina.

A radiação infravermelha (IR) corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situada entre as regiões do visível e do micro-ondas. E não é suficientemente energética para causar transições eletrônicas e quando absorvida, fornece energia suficiente apenas para alterar as vibrações entre os átomos em uma molécula.

Para absorver radiação infravermelha a molécula precisa sofrer uma variação no momento de dipolo como consequência do movimento vibracional ou rotacional. Apenas nessas circunstâncias o campo elétrico alternado da radiação pode interagir com a molécula e causar variações na amplitude de um de seus movimentos.

O espectro vibracional é formado de uma série de picos ou bandas que representam os modos normais de vibração. Certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula. É justamente a presença dessas bandas características que permite fazer a identificação de estruturas.

Metodologia

Para este estudo foram utilizadas: uma amostra de vitamina comercial fabricada no exterior fora do prazo de validade, uma amostra manipulada com o princípio ativo e uma amostra de vitamina comercial fabricada no Brasil dentro do prazo de validade. Utilizou-se o espectrofotômetro infravermelho Spectrum Sp 400 FT-IR da Perkin-Elmer do IP&D, UNIVAP.

Resultados

A figura 2 representa o espectro infravermelho da biotina. Foram observadas as bandas intensas em 1703 cm^{-1} e em 1683 cm^{-1} que correspondem aos modos normais de vibração do estiramento assimétrico do grupo carboxilato COO^- e do estiramento das ligações $\text{C}=\text{O}$ do grupo carbonila, respectivamente. Na região de 3400 cm^{-1} a 3200 cm^{-1} foram encontradas as bandas correspondentes aos modos vibracionais do estiramento da ligação N-H do grupo amina (Silverstein, 2005). As bandas intensas de 1703 cm^{-1} e 1683 cm^{-1} foram escolhidas para servirem de marcadoras da presença da biotina nos medicamentos analisados, pois estavam numa região relativamente livre das outras bandas e eram mais intensas no espectro da biotina.

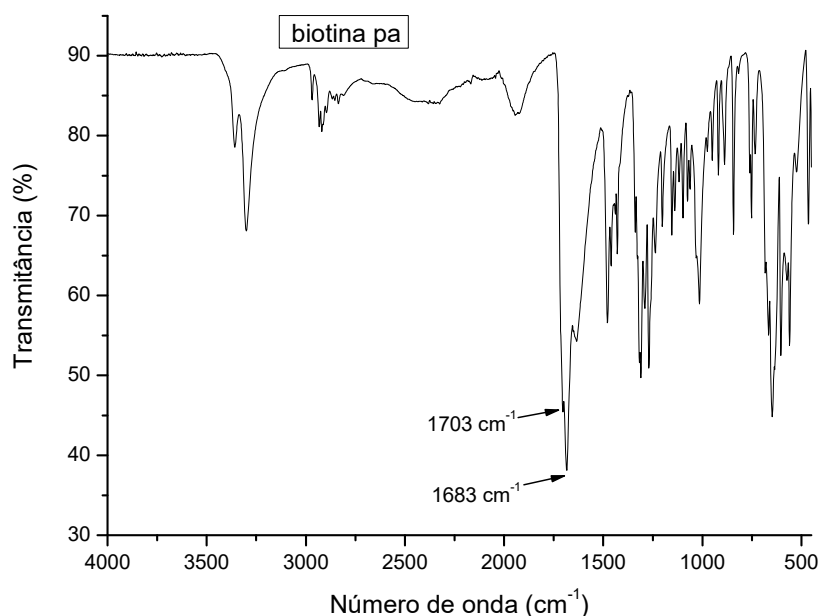


Figura 2: Espectro infravermelho da biotina

As figuras 3, 4 e 5 mostram os espectros infravermelhos dos medicamentos A, B e C.

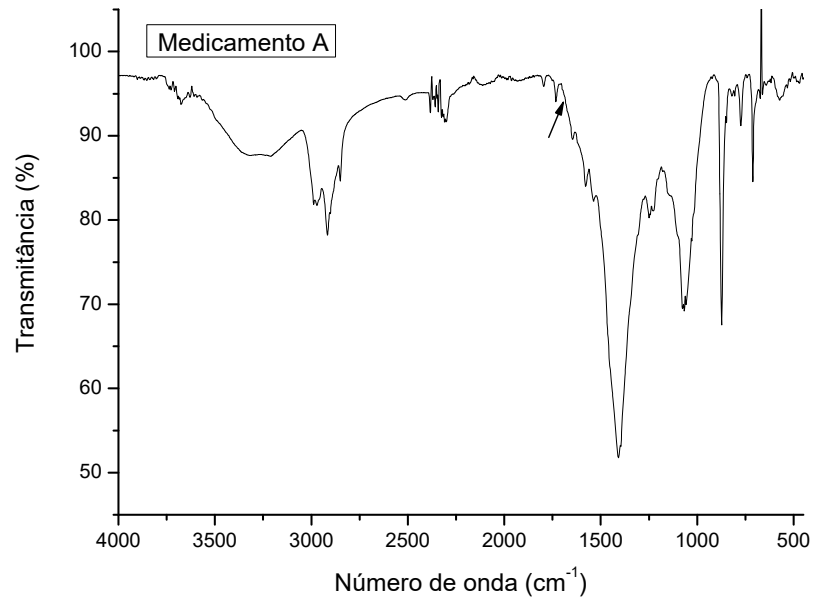


Figura 3: Medicamento comercial do exterior fora do prazo de validade.

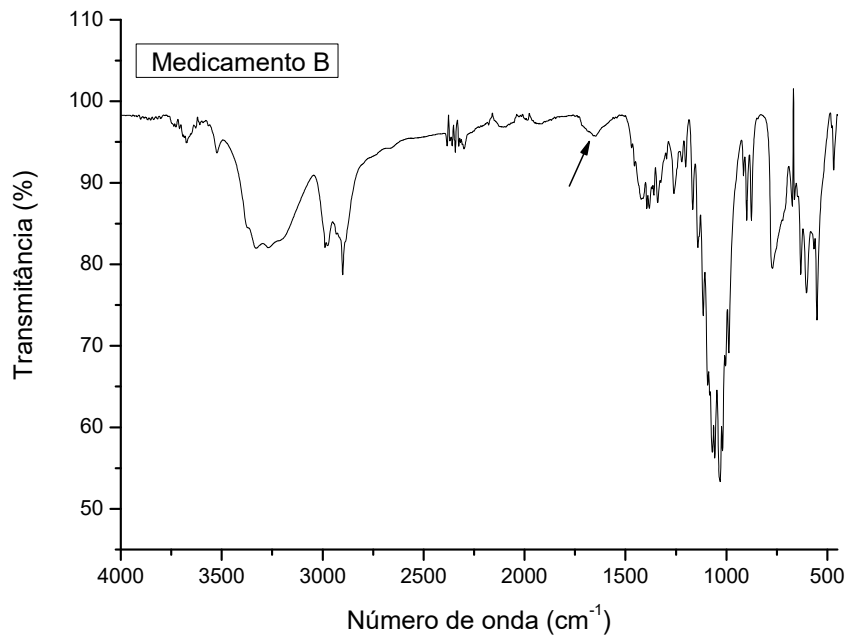


Figura 4: Biotina da farmácia manipulação.

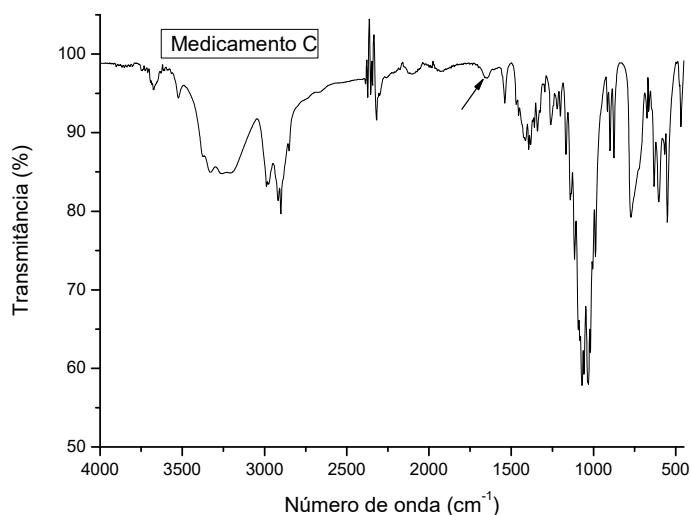


Figura 5: Medicamento comercial do Brasil dentro do prazo de validade.

A figura 2 mostra o espectro infravermelho do medicamento A. As bandas marcadoras de biotina não foram identificadas por inspeção visual direta encobertas pela banda muito intensa e larga do excipiente em aproximadamente 1400 cm^{-1} .

Nas figuras 4 e 5, os espectros infravermelhos dos medicamentos B e C mostraram as bandas marcadoras em aproximadamente 1700 cm^{-1} com intensidades reduzidas.

Para certificar da presença das bandas marcadoras no medicamento A foi necessário recorrer pelo uso de espectros de segunda derivada. É uma técnica utilizada na espectroscopia para reduzir os efeitos de superposição de bandas (Stuart, 1997). A figura 6 mostra os espectros de segunda derivada evidenciando a presença das bandas de 1703 cm^{-1} e 1683 cm^{-1} correspondentes aos modos normais de vibração das bandas marcadoras da biotina.

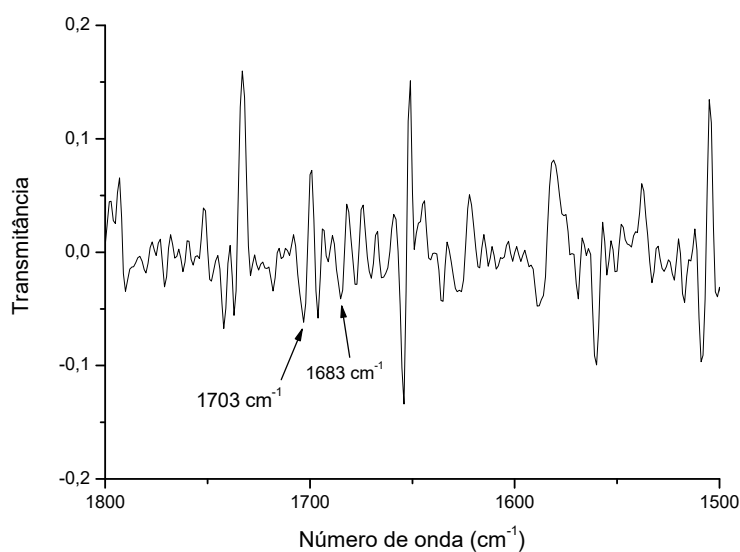


Figura 6: Espectro Infravermelho de segunda derivada da amostra do medicamento comercial do exterior fora do prazo de validade

Discussão

As vitaminas comerciais e manipulada de biotina apresentam uma concentração de biotina pequena e uma grande concentração de excipiente, o que pode dificultar o controle de qualidade das vitaminas. A espectroscopia infravermelha juntamente com recursos matemáticos mostrou-se muito útil na identificação das bandas marcadoras dos medicamentos estudadas.

Ao analisar por espectroscopia infravermelha as amostras de vitaminas comerciais e manipulada, revelou-se que os espectros das vitaminas não apresentam similaridade ao espectro da biotina, devido a notável presença de excipientes. E especificamente, no espectro do medicamento comercial do exterior fora do prazo de validade não foram identificadas por inspeção visual as bandas marcadoras da biotina. Foi necessário recorrer a técnica de segunda derivada para detectar a presença das bandas marcadoras do princípio ativo, o que se faz coerente pois a vitamina apresenta-se fora do prazo de validade para consumo humano.

Conclusão

Considerando os resultados obtidos, através dos experimentos executados, podemos afirmar que a espectroscopia de infravermelho revelou-se eficiente para identificação das bandas marcadoras do princípio ativo das vitaminas estudadas, mesmo que essas amostras apresentem baixa concentração do princípio ativo.

Referências

FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9.ed. São Paulo: Atheneu, 2004, p.50-52.

RODOVALHO, W. Estudos metodológicos visando a síntese da biotina a partir da hidantoína. 2008. 58 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de Brasília; Instituto de Química, Brasília, DF, 2008.

ZERZANOVA, A.; ZIZKOVSKY, V.; KUCERA, R.; KLIMES, J.; JESENSKY, I.; DOHNAL, J.; BARRON, D. Using of HPLC coupled with coulometric detector for the determination of biotin in pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, London, v.45, p.730–735, 2007.

ANICETO, C.; CANAES, L. S.; CAVALHEIRO, C. C. S.; FILHO, O. F. Determinação espectrofotométrica de vitamina B2 (riboflavina) em formulações farmacêuticas empregando sistema de análises por injeção em fluxo. *Química Nova*, São Paulo, v.23, n.5, 2000.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7 e.d. Livros Técnicos e Científicos, 2005

GONÇALVES, G.S.; Atributos da validação do método analítico para quantificação da biotina empregando a técnica potenciométrica. 2010. Tese (mestrado ciência dos alimentos) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, SP, 2010.