DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DO ODOR DE ALIMENTOS EM DECOMPOSIÇÃO PRESENTES NA DIETA HUMANA ASSOCIADAS A HALITOSE

Emanuel Migliorini (BIC/Fundação Araucária), Daniele Regiane Passolongo (Co-autor), Maria Larissa Pereira Andruchiw (co-autor), Vitoldo Antonio Kozlowski Junior (Orientador), e-mail: vakozlowski@uepg.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia

4.02.00.00-0 Odontologia; 4.02.01.00-7 Clínica Odontológica

Palavras-chave: Biofilme lingual, Teste organoléptico, Voltametria, Halitose

Resumo

A halitose constitui uma queixa comum, de âmbito mundial, que afeta pessoas de ambos os sexos e de todas as idades. O principal fator causador da halitose é a decomposição de matéria orgânica na cavidade oral, gerando compostos sulfurados voláteis, compostos orgânicos voláteis e ácidos orgânicos de cadeia curta, sendo a língua a fonte principal de mau odor em indivíduos saudáveis e com doença periodontal. A decomposição de alimentos libera um odor que pode ser representado de forma subjetiva através da escala organoléptica, que avalia o mau cheiro entre 0 e 510 e se determina pela inalação do odor da amostra. A voltametria se utiliza na eletroanálise, a fim de analisar a relação corrente X potencial, na eletrólise de substâncias. O presente trabalho tem como objetivo analisar, por meio de teste organoléptico e voltamétrico, amostras de queijo, carne, ovo e peixe em decomposição, visando a identificação de cadaverina, ácido valérico e putrescina. Através deste trabalho pode-se concluir que a avaliação organoléptica, embora seja um teste subjetivo onde o avaliador quantifica o odor, quando utilizada em conjunto com a voltametria pode demonstrar resultados mais objetivos.

Introdução

Os principais causadores da halitose são metabólitos bacterianos, degradação de células, bactérias e restos alimentares, presentes na saburra lingual.

Ela é formada de células epiteliais descamadas, células sanguíneas, metabólitos, nutrientes, bactérias e restos alimentares (YAEGAKI e SANADA, 1992) e depreende um mau cheiro, causado pelos compostos sulfurados voláteis (CSV), como a metilmercaptana, dimetilsulfeto e sulfeto de hidrogênio; e também por compostos orgânicos voláteis (COV), como putrescina, cadaverina e os ácidos orgânicos de cadeia curta, como o butírico, o valérico e escatol (LOESCHE e KAZOR, 2002). A cadaverina, formada a partir da descarboxilação de aminoácidos por ação bacteriana, além de se relacionar com a putrefação, também é produzida em pequenas quantidades por seres vivos, animais e vegetais (SANCHES-CASCADO, 2005). A inflamação periodontal contém microrganismos e produtos específicos, como as bactérias *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythensis,* que possuem como principal função a produção de compostos sulfurados voláteis e são associadas à doença periodontal (ZANOTTI *et al*., 2016).

O teste subjetivo de detecção da halitose, também chamado de teste organoléptico, consiste na avaliação do odor de uma certa substância isolada (para evitar interferência de outras substâncias) em uma escala de 0 (agradável) a 510

(muito desagradável) (DAL RIO *et al*., 2007). Sozinho, esse teste é de utilidade limitada, pois depende da capacidade olfatória do examinador, podendo ser comprometido por condições climáticas ou afecções que diminuam a sensibilidade do examinador. A voltametria é utilizada na eletroanálise e estuda a relação entre corrente e potencial durante a eletrólise de uma substância. Para a obtenção das medidas de corrente, utiliza-se um sistema potenciostático de três eletrodos: Um de trabalho (no qual ocorre a eletrólise), um de referência (usado para medir o potencial do eletrodo de trabalho) e um eletrodo auxiliar ou contra eletrodo (juntamente com o eletrodo de trabalho, permite a passagem da corrente). Eles são posicionados na célula voltamétrica e imersos em um eletrólito suporte, que é uma solução inerte de eletroatividade. O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente e a curva obtida é chamada de voltamograma (DIAS, 2001).

Materiais e Métodos

Primeiramente realizou-se uma revisão de literatura das substâncias cadaverina, putrescina e ácido valérico. A pesquisa bibliográfica foi conduzida através de bases de dados como Google Scholar e Pubmed, com o uso de palavras-chave. Para preparo do material biológico a ser analisado foram adquiridos 100g de amostras de queijo Gorgonzola, 100g de carne Acém Agulha, 100g de peixe Cascudo e 100g de ovos em diferentes mercados localizados na região de Ponta Grossa-PR. As amostras foram trituradas separadamente em liquidificador com 50mL de água destilada para obter uma mistura homogênea, que foi separada em cinco potes universais estéreis de 80mL, cada qual com 10g do material. Os recipientes foram tampados e no primeiro dia ficaram expostos ao sol por quatro horas. Depois foram colocados em local fechado a temperatura média de 20ºC, onde permaneceram por quatro dias. Todos os dias as amostras foram abertas para realização do teste organoléptico (DAL RIO *et al*., 2007). Os scores e dias foram organizados em tabela no software Excel. No quinto dia, as amostras foram embaladas em papel filme e congeladas a uma temperatura média de -25ºC até o momento da analise voltamétrica, quando as amostras foram descongeladas com o auxílio do micro-ondas. A amostra de frango foi descongelada por 15 segundos e a amostras de queijo Gorgonzola, peixe Cascudo e ovo de galinha, por 10 segundos.

Foram acrescentados 10 mL de água destilada e o conteúdo foi misturado com espátula de madeira descartável. A amostra foi então centrifugada a 3600 rpm por 5 minutos. O conteúdo, solvente e soluto, foram armazenados separadamente em potes de 15 mL. Os testes foram realizados utilizando uma célula voltamétrica de vidro com capacidade de 15 mL, e o eletrodo de trabalho de platina, o eletrodo de referência Ag/AgCl e o eletrodo auxiliar com ponta de grafite, que foram ligados ao potenciostato MQPG-01 (Microquímica Equipamentos), que forneceu os dados através do software MQPG-P, especifico para o potenciostato e calibrado na empresa de fabricação. A proporção da solução era de 10 mL da solução tampão perclorato de potássio (pH = 10). Após o primeiro teste, apenas com o tampão, foram aplicados 20 µL do solvente da amostra para novo teste, e por fim, foram acrescentados mais 20 µL do solvente da amostra, seguido de um novo teste voltamétrico. Os voltamogramas foram obtidos em velocidade de varredura de 20 mV/s, escala de corrente automática e potenciais entre +2,5 e -2,5 V e são referentes a soluções padrão do analito, através de análises no software (HOWE, 1976), seguindo a metodologia proposta por Henao-Escobar *et al* (2015). A minimização da contaminação foi realizada através da lavagem da vidraria e eletrodos em ácido nítrico 6 mol.L^{-1} e enxágue em água destilada.

Resultados e Discussão

Pela escala organoléptica, foram obtidos os seguintes valores médios: A carne, 100 ± 0.0 (média ± erro padrão da média) após 24 horas de procedimento de degradação (n=5) aumentando até 498 ± 12.0 no quinto dia da experimentação; o queijo Mussarela: 50 ± 0.0 (média ± erro padrão da média) após 24 horas da degradação (n=5) aumentando até 362 ± 17.4 no quinto dia da experimentação; o peixe Cascudo, 68 ± 9.7 (média ± erro padrão da média) após 24 horas da degradação (n=5) aumentando até 444 ± 36.0 no quinto dia da experimentação; o ovo de galinha: 150 ± 18.9 (média ± erro padrão da média) após 24 horas da degradação (n=5) aumentando até 366 ± 31.0 no quinto dia da experimentação.

Através da análise voltamétrica, foram obtidos os seguintes resultados:

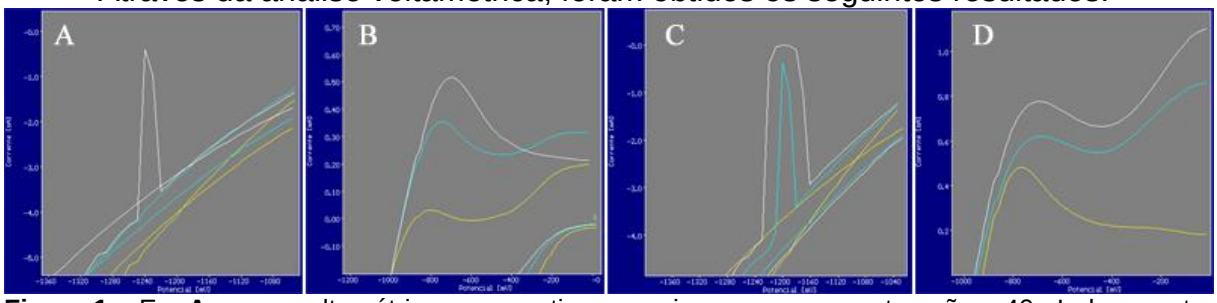


Figura 1 – Em **A**, curva voltamétrica comparativa com pico na curva com tampão e 40 µL da amostra de peito de frango (branca); em **B**, curva voltamétrica comparativa mostrando picos nas curvas com tampão com 20 µL da amostra de queijo Gorgonzola (azul) e tampão com 40 µL da amostra de Gorgonzola (branca); em **C**, curva voltamétrica comparativa mostrando picos nas curvas com tampão com 20 µL da amostra de peixe Cascudo (azul) e tampão com 40 µL da amostra de Cascudo (branca); em **D**, curva voltamétrica comparativa mostrando picos nas curvas com tampão com 20 µL da amostra de ovo de galinha (azul) e tampão com 40 µL da amostra de ovo de galinha (branca).

Pela análise voltamétrica foi possível identificar um pico I [mA] = 3.530E+00 e E [mV] = -1240.7 quando o teste foi realizado em solução tampão perclorato contendo 40 µL da amostra de peito de frango **(Figura 1-A)**. Tal pico pode ser relacionado com a presença de uma substância que só pode ser detectada quando se realizou o teste com maior quantidade da amostra, provavelmente a cadaverina.

Comparando as curvas voltamétricas de Gorgonzola **(Figura 1-B)**, podemos observar a presença de uma substância com pico de I [mA] = 1.439E-01 e E [mV] = -700.2 para a solução tampão perclorato de potássio com 20 µL da amostra de queijo Gorgonzola e I [mA] = 2.529 E-01 e E [mV] = -700.2 na solução tampão perclorato com 40 µL da amostra de queijo, podendo notar-se a corrente é diretamente proporcional à amostra. O pico E = -700.2 mV pode ser o Ácido Valérico. Pela comparação das curvas voltamétricas do peixe Cascudo **(Figura 1-C)**, podemos observar a presença de uma substância com pico de I [mA] = 3.301E+00 e E [mV] = -1200.3 para a solução tampão perclorato de potássio com 20 µL da amostra de peixe Cascudo e I [mA] = 3.594E+00 e E [mV] = -1200.3 na solução tampão perclorato com 40 µL da amostra de peixe Cascudo. Nesse caso, a corrente também é diretamente proporcional à amostra. O pico E =-1200.3 mV pode ser a putrescina. Com a análise das curvas voltamétricas do ovo de galinha **(Figura 1-D)**, podemos observar a presença de uma substância com pico de I [mA] = 1.477E-01 e E [mV] = -696.4 para a solução tampão perclorato de potássio com 20 µL da amostra de ovo de galinha e I [mA] = 2.509E-01 e E [mV] = -696.4 na solução tampão perclorato com 40 µL da amostra de ovo de galinha. Nesse caso também pode-se notar a proporcionalidade entre corrente e amostra. O pico E = -696.4 mV pode ser a putrescina

Em todos os casos, se faz necessário a comparação com o teste voltamétrico em solução tampão e amostra de putrescina, ácido valérico e cadaverina para que possamos saber com exatidão a substância identificada.

Conclusões

Através deste trabalho pode-se concluir que a avaliação organoléptica, embora seja um teste subjetivo onde o avaliador quantifica o odor, quando utilizada em conjunto com a voltametria pode demonstrar resultados mais objetivos.

Com essa associação, pode-se chegar a um valor médio de CSV, COV e ácidos orgânicos de cadeia curta presente em uma determinada amostra através da união da quantidade da amostra, valor organoléptico, valor voltamétrico da amostra e valor voltamétrico da substância de interesse, podendo ser usada como um parâmetro na avaliação clínica da saúde oral de pacientes.

Com os testes voltamétricos realizados, pode-se concluir que as amostras de queijo Gorgonzola possuem a substância de identidade E = -700.2 mV, as amostras de peito de frango possuem a substância de identidade E = -1240.7 mV, as amostras de peixe Cascudo possuem a substância de identidade E= -1200.3 mV e as amostras de ovo de galinha possuem a substância de identidade E= -696.4 mV.

Agradecimentos

Agradeço à Fundação Araucária. À minha noiva, Maria Larissa P. Andruchiw, por me acompanhar e apoiar sempre, além de me ajudar a revisar os textos. À Julia Folmer, por nos ajudar na preparação das soluções. E ao professor orientador por toda a paciência, compreensão e auxilio durante a execução do projeto.

Referências

AMORIM, J. A. et al. Análise da relação entre a ocorrência da halitose e a presença de saburra lingual. **RGO. Revista Gaúcha de Odontologia (Online),** v.59, n.1, p.7-13, 2011.

DAL RIO, A. C. C. *et al.* Halitose: proposta de um protocolo de avaliação. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v.73, n.6, p.835-842, 2007.

DIAS, DAIANE. **Determinação voltamétrica de compostos de enxofre de baixo peso molecular em amostras de asfalto**. 2008. 108 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul, 2008.

HENAO-ESCOBAR, W. et al. Resolution of quaternary mixtures of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by the square wave voltammetry and partial least squares method. **Talanta**, v. 143, p. 97-100, 2015.

HOWE, L. H. Voltammetric determination of acrolein. **Virginia: National Technical Information Service**, jul. 1976. 52 p.

LOESCHE, Walter J.; KAZOR, Christopher. Microbiology and treatment of halitosis. **Periodontology 2000**, v. 28, n. 1, p. 256-279, 2002.

SÁNCHEZ-CASCADO, Sofía et al. **Estudio de alternativas para la evaluación de la frescura y la calidad del boquerón ("Engraulis Encrasicholus") y sus derivados**. 2005. 287 f. Dissertação (Doutorado em Nutrição) – Faculdad de Farmacia. Barcelona, 2005.

YAEGAKI, K.; SANADA, K_. Volatile sulfur compounds in mouth air from clinically healthy subjects and patients with periodontal disease. **Journal of periodontal research**, v. 27, n. 4, p. 233-238, 1992.

ZANOTTI, E. et al. Comparação da percepção do paciente em relação ao próprio hálito e o índice de saburra lingual. **Braz J Periodontol,** v.26, n.1, p.7-12, 2016.