

Determinação de Ácido Ascórbico em Fármacos e Sucos de Frutas por Titulação Espectrofotométrica

Determination of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Formulations and Tropical Fruit Juices by means of Spectrophotometric Titration

Sueli Pércio Quináia

Departamento de Química

Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO

spquinaia@unicentro.br

Márcia Ferreira

Departamento de Química

Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO

Resumo: Um procedimento de titulação espectrofotométrica para a determinação de ácido ascórbico (AA) em fármacos e sucos de frutas tropicais baseado na decomposição do complexo de $[\text{Fe}^{3+}(\text{SCN}^-)_n]^{+3-n}$ pela redução com AA foi descrito. A praticabilidade do procedimento foi verificada através da determinação do ácido ascórbico (AA) em amostras de suplementos alimentares e nos sucos dos frutos araçá (*Psidium cattleianum*), acerola (*Malpighia glabra*), Maracujá (*Passiflora edulis*), uvaia (*Eugenia pyriformis*), butiá (*Butia eriosphata*) e laranja (*Citrus sinensis*). Os frutos foram resfriados para minimizar a oxidação do AA. O teor de AA determinado na acerola foi duas vezes maior do que o quantificado nas espécies de laranja, butiá e uvaia. O maracujá foi o fruto que apresentou o menor teor de AA. Os resultados mostraram que o método foi rápido e sensível quando comparado ao recomendado pela literatura.

Palavras-chave: ácido ascórbico; sucos de frutas tropicais; titulação espectrofotométrica

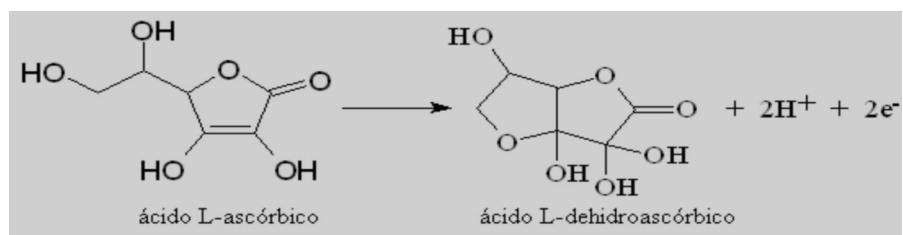
Abstract: A procedure for spectrophotometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical formulations and tropical fruits juices based on $[\text{Fe}^{3+}(\text{SCN}^-)_n]^{+3-n}$ complex decomposition by reduction has been described. The feasibility

of the procedure was verified by determination of ascorbic acid (AA) in samples of pharmaceutical food formulations and in juices made of “araçá” (*Psidium cattleianum*), “acerola” (*Malpighia glaba*), “maracujá” [passionfruit] (*Passiflora edulis*), “uvaia” (*Eugenia pyriformis*), “butiá” (*Butia eriosphata*) and orange (*Citrus sinensis*) fruits. The fruits were frozen to minimize AA oxidation. The AA level determined in “acerola” was twice the amount found in species of orange, “butiá” and “uvaia”. Passionfruit presented the lowest level of AA. The results have shown that the spectrophotometric method was fast and sensitive, unlike the recommendations in literature.

Key words: ascorbic acid; tropical fruit juices; spectrophotometric titration

Introdução

O ácido ascórbico (AA) faz parte de um grupo de substâncias químicas complexas necessárias para o funcionamento adequado do organismo. É uma vitamina hidrossolúvel, o que significa que o organismo usa o que necessita e elimina o excesso¹. O AA encontra-se em equilíbrio entre as formas reduzida e oxidada (ácido L-ascórbico e ácido L-dehidroascórbico, respectivamente). A carência dessa vitamina pode ser originada através de uma dieta mal equilibrada. Os ácidos L-ascórbico e dehidroascórbico ocorrem em quantidades significativas nas frutas cítricas, tomate, batata e em várias outras frutas e verduras.



A principal causa da degradação do AA é a oxidação, aeróbica ou anaeróbica, ambas levando à formação de furaldeídos, compostos que polimerizam facilmente, com formação de pigmentos escuros. A estabilidade do AA aumenta em baixas temperaturas e a sua perda ocorre com facilidade durante o aquecimento dos alimentos^{1,2}.

Os métodos clássicos para a determinação do AA baseiam-se no seu forte poder redutor. Para sucos de frutas, a técnica mais utilizada é a da titulação de Tillmans que se baseia na redução do 2,6 diclorofenol-indofenol por uma solução de AA, mas este método sofre a interferência de íons ferrosos, estanho, cobre cuproso e sulfito que são redutores, interferindo portanto na análise^{3,4}.

Encontram-se na literatura vários procedimentos analíticos para a determinação do AA, sendo a espectrofotometria de absorção molecular muito utilizada na determinação devido a facilidade de redução do $[\text{Fe}^{3+}(\text{SCN}^-)_n]^{+3-n}$ pelo AA e posterior complexação do Fe^{2+} com substâncias que absorvem na região de comprimento de onda do ultra-violeta ao visível^{5,6,7,8,9,10}.

O efeito benéfico do AA como vitamina aliado ao seu emprego como aditivo em alimentos, leva-nos a desenvolver novos procedimentos analíticos para a determinação do AA em fármacos e em alimentos. Avaliar a quantidade de AA constitui um importante fator para o controle da qualidade de alimentos, bebidas e fármacos. Sua caracterização em frutos tropicais é relevante, pois pode contribuir para um aproveitamento mais racional dos recursos naturais gerando benefícios sociais e econômicos.

O objetivo desse experimento foi otimizar um procedimento analítico rápido e econômico para a determinação do teor de AA presente em suplementos vitamínicos e sucos de frutas. A reação da titulação foi baseada na destruição do complexo $[\text{Fe}(\text{SCN})_n]^{(+3-n)}$ pelo AA presente nas amostras.

Materiais e métodos

Soluções de reagentes e amostras

Todos os reagentes utilizados na execução do trabalho foram de grau analítico (PA) e a água utilizada na preparação de todas as soluções foi ultra-pura (Human UP 900). Solução de tiosulfato de sódio: $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ padronizada com dicromato de potássio. Solução de iodo: $3,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ padronizada com solução padrão de tiosulfato. Em todos os procedimentos envolvendo iodo, usou-se uma solução de amido 1% m/v como indicadora do ponto final da titulação.

A solução do complexo de Fe^{3+} foi preparada a partir do reagente cromogênico tiocianato de potássio. Uma solução padrão de AA $1,1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi utilizada nas titulações espectrofotométricas para a otimização do método analítico.

Desenvolveu-se o trabalho com amostras comerciais de suplementos vitamínicos à base de AA e frutas coletadas na região de Guarapuava-PR. Os frutos foram resfriados após a coleta e o teor de AA foi determinado no mesmo dia. Para as amostras de laranja e maracujá, extraiu-se e filtrou-se o suco. As amostras de butiá, uvaia, acerola e araçá foram despulpadas e filtradas.

Titulação iodométrica de fármacos

Pesou-se exatamente a massa da pastilha do suplemento vitamínico contendo o AA. A amostra foi solubilizada com água e transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Pipetou-se 25 mL da amostra e transferiu-se para um erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se 5 mL da solução de amido. Fechou-se o erlenmeyer com plástico PVC contendo uma pequena abertura para inserir a ponta da bureta e titulou-se com a solução de iodo $3,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ rapidamente até o aparecimento da cor azul¹¹.

Otimização do procedimento analítico para a titulação espectrofotométrica de fármacos e sucos de frutas

As determinações de AA foram realizadas em um espectrofotômetro UV-VIS (E225 D, monofeixe). Para efetuar as análises, utilizou-se a técnica da titulação espectrofotométrica do complexo $\text{Fe}^{3+}[(\text{SCN})_n]^{+3-n}$ com soluções contendo o AA. À solução de $\text{Fe}^{3+}[(\text{SCN})_n]^{+3-n}$ sob agitação, adicionou-se um volume medido do titulante e efetuou-se as leituras de absorvância. A operação foi repetida além do ponto de equivalência. A curva de titulação espectrofotométrica foi otimizada usando-se soluções padrão do complexo de Fe^{3+} e de AA. O comprimento de onda utilizado nas medidas foi de 460 nm, escolhido com base no espectro obtido através de uma curva de absorvância *versus* comprimento de onda (Figura 1). A figura 2 apresenta a titulação do complexo $\text{Fe}^{3+}[(\text{SCN})_n]^{+3-n}$ ($4,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) com AA ($1,1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), o ponto

de encontro entre as duas retas forneceu o volume exato para quantificar o teor de AA. Foi observado o decréscimo de absorvância da solução de $\text{Fe}^{3+}[(\text{SCN})_n]^{+3-n}$ pela adição do AA. A junção da amostra contendo o AA reduziu o Fe^{3+} a Fe^{2+} desfavorecendo a ligação entre o tiocianato e o ferro. A variação de absorvância foi proporcional à concentração de AA adicionada durante a titulação. As medidas espectrofotométricas foram realizadas a cada adição do titulante e o ponto de equivalência foi determinado graficamente. Quando a titulação foi realizada através de agitação manual, obteve-se uma mistura lenta entre o titulante e titulado e a repetibilidade entre as triplicatas de uma mesma amostra não foram boas, gerando erros de até 58% na recuperação do analito, no entanto, com a utilização de agitação magnética durante a titulação, a recuperação do analito foi satisfatória e os gráficos obtidos apresentaram retas bem definidas. Traçou-se uma curva de calibração para o tiocianato de ferro ($1,0 \cdot 10^{-5}$ a $8,0 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1}) no comprimento de onda otimizado a fim de identificar a faixa linear de trabalho da técnica. O coeficiente de regressão linear obtido para a curva foi de 0,9981. Para cada amostra de suco de frutas analisada, utilizou-se 25 mL de solução padrão de tiocianato de ferro de concentração definida.

Figura 1. Espectro de absorção molecular para o complexo $\text{Fe}^{3+}[(\text{SCN})_n]^{+3-n}$

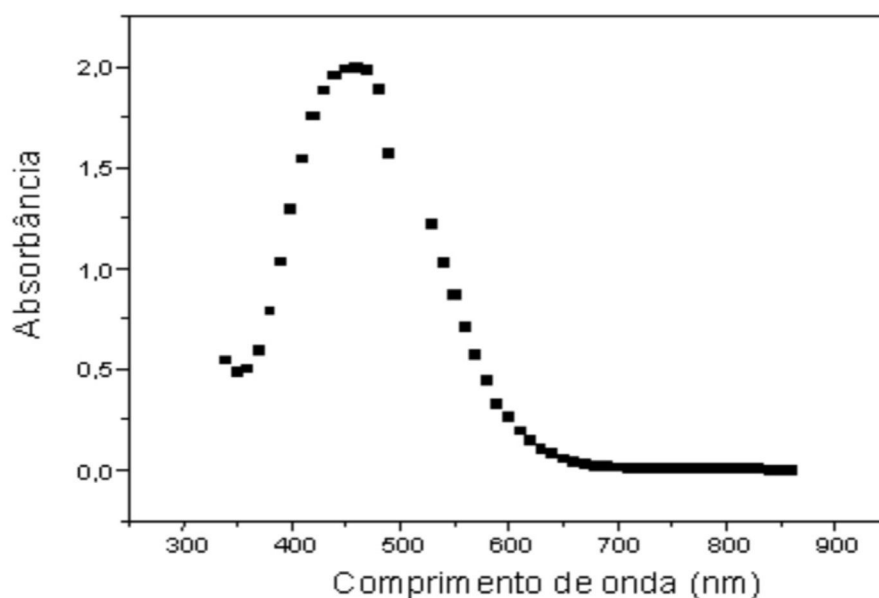
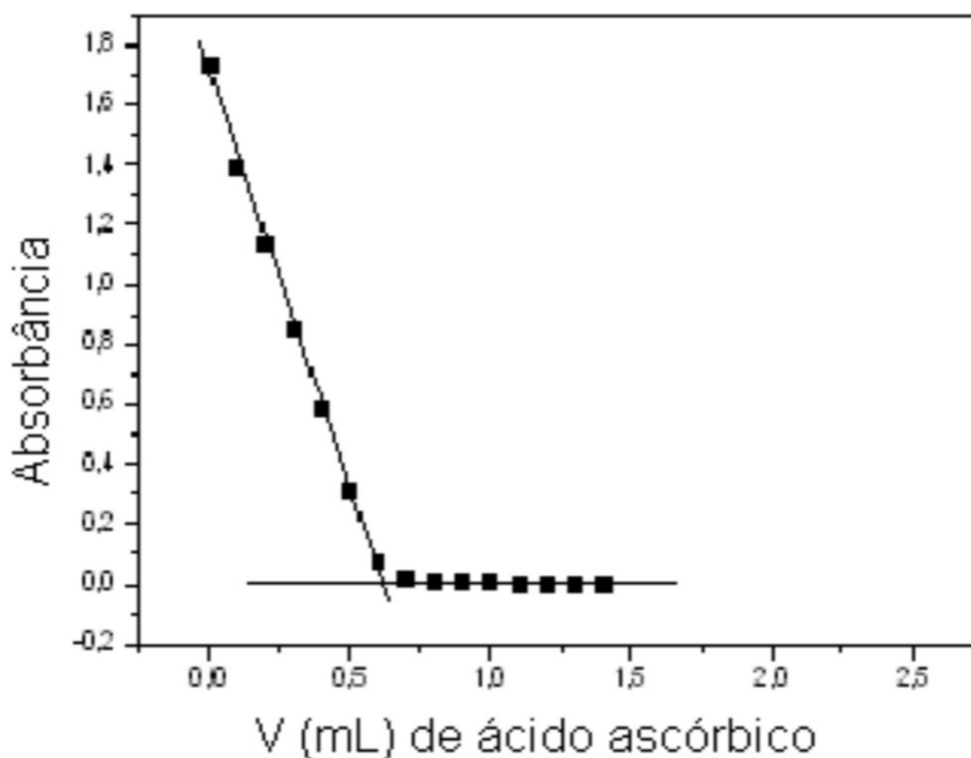


Figura 2. Curva da titulação espectrofotométrica do complexo $Fe^{3+}[(SCN)_n]^{+3-n}$ $4,75 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com solução de AA padrão $1,1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$



Resultados e discussões

A volumetria de oxido-redução é a técnica recomendada pela legislação para a determinação do AA⁴. No entanto, a técnica é passível da introdução de erros sistemáticos provenientes do analista, além de consumir uma quantidade considerável de reagentes. As titulações espectrofotométricas têm diversas vantagens sobre as titulações clássicas e determinações colorimétricas diretas. A presença de outras substâncias que absorvem no mesmo comprimento de onda não provoca, necessariamente, interferências, pois somente a variação de absorvância é significativa. No procedimento proposto, por meio da titulação espectrofotométrica com AA, a amostra foi o agente titulante e a solução padrão de tiocianato de ferro o titulado. No procedimento analítico, foram tomadas alíquotas durante o processo de titulação para a verificação das absorvâncias a cada adição de titulante. As alíquotas eram então retornadas ao frasco de titulação e dada a sequência da mesma.

A película de líquido que ficou aderida a cubeta de leitura não introduziu um erro significativo nas medidas, pois os valores obtidos através do estudo da adição e recuperação de analito foram da ordem de 96% a 102%. Os teores de AA obtidos por espectrofotometria de absorção molecular no UV-VIS foram satisfatórios, pois apresentaram concentrações iguais às obtidas com a técnica tradicional (volumetria iodométrica). A tabela 1 apresenta os resultados obtidos nas determinações das amostras usando técnicas analíticas distintas.

Tabela 1. Determinação de ácido ascórbico em fármacos (n=3)

Fármaco	Titulação Iodométrica	Titulação Espectrofotométrica
E	1,110 g \pm 0,002	1,120 g \pm 0,030
R	1,030 g \pm 0,004	0,980 g \pm 0,007
C	1,090 g \pm 0,002	1,060 g \pm 0,020

Como o método de titulação espectrofotométrica proposto apresentou-se exato, o mesmo foi aplicado para a determinação do AA em sucos de frutas tropicais. O suco de algumas frutas apresentaram uma pequena absorção no comprimento de onda de 460 nm. Quando necessário, estes valores foram subtraídos dos valores de absorvância a cada volume de amostra adicionado. A concentração do titulado foi da ordem de 10^{-4} mol L⁻¹, uma concentração pequena quando comparada aos teores de AA obtidos nas amostras. Portanto, nesse caso o efeito da diluição durante o processo de titulação pode ser considerado desprezível pelo uso do titulante suficientemente concentrado.

A figura 3 apresenta as curvas das titulações espectrofotométricas obtidas para as frutas laranja bahia, laranja lima, laranja pêra, acerola, maracujá, butiá, uvaia e araçá. O perfil obtido nas curvas de titulação para as amostras foi o mesmo demonstrado para a curva obtida com os padrões de AA e do complexo de Fe (Figura 2). O tiocianato de ferro se decompôs a medida que alíquotas dos sucos contendo AA foram introduzidas na titulação. Pode ser verificado que a quantidade de amostras e reagentes gastos no procedimento foram pequenos. A tabela 2 apresenta os teores de AA encontrados nos sucos de frutas em estudo. A acerola, tal como esperado, mostrou-se uma fonte rica em AA (1,254 g L⁻¹ do suco), enquanto que, a butiá e laranja foram caracterizadas como uma fonte média (0,505 – 0,687 g L⁻¹ do suco). A literatura cita que o teor de AA pode variar

de acordo com o grau de maturação das frutas¹². Em nosso estudo, o composto AA foi determinado em frutos completamente maduros. Todas as titulações apresentaram desvios padrão relativos inferiores a 2% para as triplicatas.

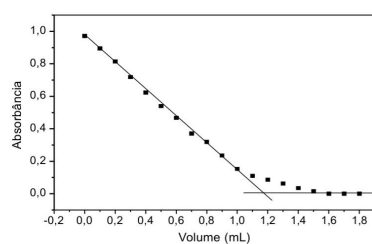
As frutas araçá, uvaia e butiá são encontradas com facilidade na região de Guarapuava-PR. Essas frutas apresentaram teores de ácido ascórbico inferiores à acerola, no entanto, são teores significativos e que podem ser introduzidos na dieta alimentar da população gerando benefícios sociais e econômicos para a região.

Tabela 2. Determinação de ácido ascórbico em frutas por titulação espectrofotométrica (n=3)

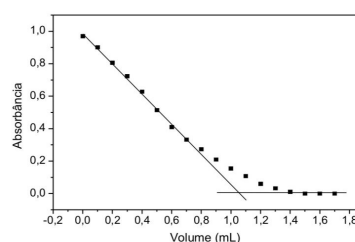
Sucos de Frutas	Teor de ácido ascórbico (g L ⁻¹)
Acerola	1,254 ± 0,003
Butiá	0,687 ± 0,002
Laranja Lima	0,547 ± 0,006
Laranja Pera	0,536 ± 0,014
Laranja Bahia	0,505 ± 0,003
Uvaia	0,482 ± 0,007
Araçá	0,393 ± 0,030
Maracujá	0,221 ± 0,012

Figura 3. Determinação de AA por titulação espectrofotométrica: (a) Laranja Bahia, (b) Laranja Lima, (c) Laranja Pera, (d) Maracujá, (e) Butiá, (f) Uvaia, (g) Acerola, (h) Araçá

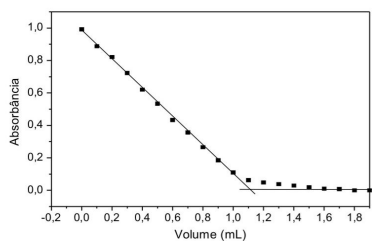
(a)



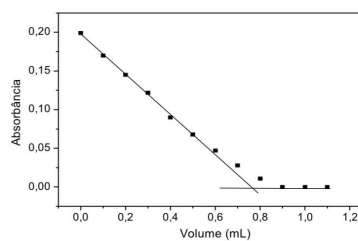
(b)



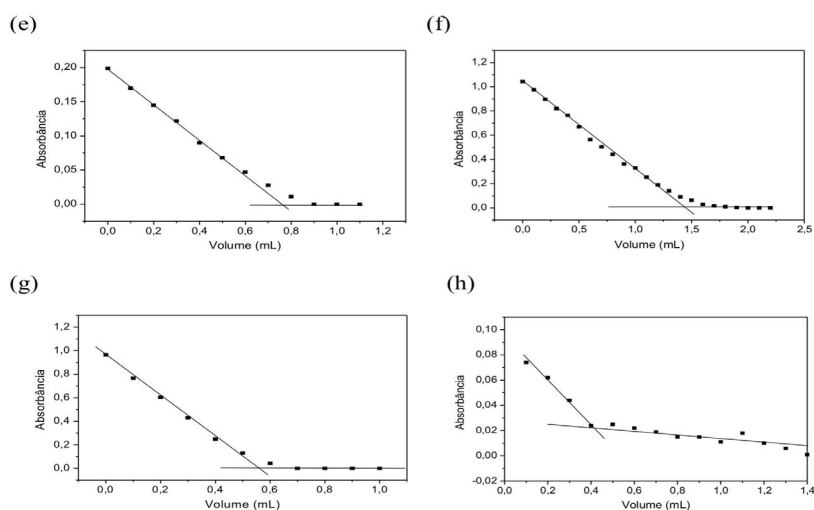
(c)



(d)



Continua



Conclusões

A titulação espectrofotométrica demonstrou ser viável para a determinação de ácido ascórbico em fármacos e sucos de frutas, pois utiliza pequenos volumes de reagentes, possibilita maior rapidez nas análises e elimina erros sistemáticos que podem ocorrer durante a determinação do AA pela técnica tradicional de análise.

A uvaíia, o araçá e a butiá são frutos regionais comuns em Guarapuava, PR, portanto, podem ser facilmente incorporados na dieta alimentar de crianças e adultos a fim de suprir as necessidades diárias.

Agradecimentos

Os autores agradecem à UNICENTRO pela bolsa de Iniciação Científica institucional concedida a acadêmica Márcia Ferreira.

Referências

1. BOBBIO, F.; BOBBIO P. *Introdução a Química de Alimentos*. 2. ed. São Paulo: Livrarias Varella, 1992.

2. DOSUNMU, M. I.; JOHNSON, E. C. Chemical evaluation of the nutritive value and changes in ascorbic acid content during storage of the fruit of bitter kola (*Garcinia kola*). *Food Chem.*, v.54, p.67-71, 1995.
3. GARDENER, P. T.; WHITE, T. A. C.; McPHAIL, D. B.; DUTHIE, G. G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chem.*, v.68, p.471-474, 2000.
4. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1. Métodos Químicos e Físicos para a Análise de Alimentos. 3. ed. São Paulo. 1985.
5. ARYA S. P.; MAHAJAN M.; JAIN P. A. Colorimetric method for ascorbic acid assay of pharmaceuticals. *Chemia Analytyczna*, 43 (2) 231-239, 1998.
6. ARYA S. P.; MAHAJAN, M. Nitroso-R salt as a sensitive spectrophotometric reagent for the determination of vitamin C. *Analytical Letters*, 30 (14) 2541-2553, 1997.
7. ARYA S.P. e MAHAJAN M. Spectrophotometric determination of ascorbic acid using an iron II-pyridine-picolinic acid complex. *Analytical Sciences*. 12 (6) 941-945, 1996.
8. SULTAN S.M. e DESAI N.I. Mechanistic study and kinetic determination of vitamin C employing the sequential injection technique. *Talanta* 45 (6) 1061-1071, 1998.
9. MA W. X. Determination of ascorbic acid in medicine by sulfosalicylic acid spectrophotometry. *Spectroscopy and Spectral Analysis*. 19 (3) 507, 1999.
10. FERREIRA S. L. C.; BANDEIRA M. L. S. F.; LEMOS V. A.; SANTOS H. C.; COSTA A. C. S.; JESUS D. S. Sensitive spectrophotometric determination of ascorbic acid in fruit juices and pharmaceutical formulations using 2-5-bromo-2-pyridylazo-5-diethylaminophenol. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. 357 (8) 1174-1178, 1997.
11. Official Methods of Analysis of the Association of Official analytical Chemist. 14 ed. Arlington, 1984.
12. VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. *Food Chem.*, v.71, p.195-198, 2000.