

METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA VITAMINA C

Marco Antonio Dexheimer e Clóvis Antonio Perazzolo*

Departamento de Química Orgânica, Inst. de Química
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil
(Recebido em 10/11/80)

O ácido ascórbico e seus sais, sódico e cálcio, são largamente empregados como medidamentos para manutenção dos níveis plasmáticos normais desta vitamina essencial. Há evidências de sua necessidade no metabolismo da tirosina, na biossíntese dos ácidos fólico-folínico, na formação de fibrilas e colágeno do tecido corretivo e de substância intracelular dos capilares^{1,2}.

Como medicamento é comercializado mundialmente, sob as formas de pó, comprimido e solução. Normalmente, está constituído de um estabilizante; outras vezes, aparece aromatizado e/ou corado, ou ainda efervescente. Estas formulações satisfazem e confortam o consumidor, assegurando um maior consumo.

Entretanto, no presente trabalho nossa preocupação é avaliar a quantidade da matéria-prima disponível no mercado e empregada pelos fabricantes em suas preparações. Para tal, propomos uma nova metodologia que se distingue pelas características:

- técnica muito simples;
- tempo da reação; 5 minutos;
- utiliza material rotineiro de laboratório;
- reagentes obtidos no comércio nacional, isentando do incômodo e ônus da importação;

e. resguarda rigorosamente os conceitos de exatidão, precisão, sensibilidade e linearidade.

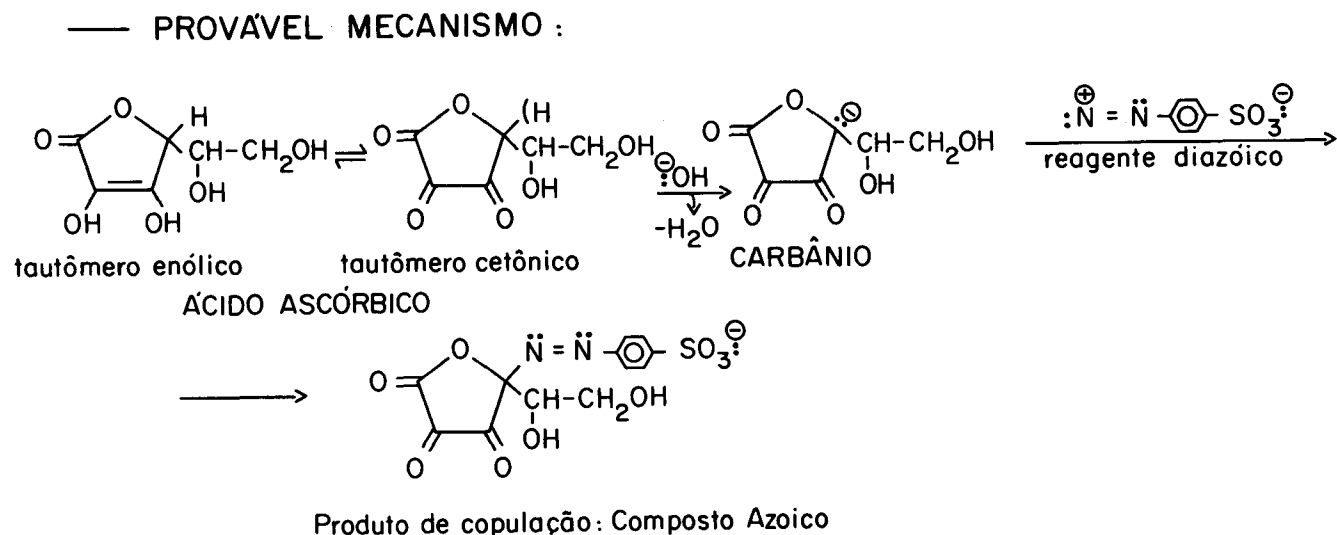
Trabalho subvencionado pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Esta metodologia permite às indústrias de medicamentos e alimentos determinarem o real teor em vitamina C presente na matéria-prima de grau comercial, adquirida.

Foram confrontados métodos consagrados^{3,4,5} e outros recentes^{6,7,8,9}, dentre os quais três foram experimentados. Verificou-se limitações nos prolongados períodos de reação, nas extrações muito elaboradas de produtos finais, aparelhos semi ou automatizados e reagentes incompatíveis ao uso industrial e laboratorial, tais como Fast Black K, difilina e 2,6-dicloro-4-nitroanilina.

Insatisfeitos com estas restrições, propomos uma metodologia que consiste na reação de copulação do sal de diazônio do ácido sulfanílico com o ácido ascórbico em pH alcalino. Isto porque estes sais copulam com compostos que se enolizam facilmente¹⁰, como é o caso do constituinte analisado.

O produto azóico da copulação é medido espectrofotometricamente, e o provável mecanismo do método é o seguinte:



* Trabalho subvencionado pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

TÉCNICA

As amostras comerciais são dissolvidas em ácido oxálico 0,5% em concentrações adequadas. São usados três padrões nas concentrações 100mg% (P_1), 300mg% (P_2) e 500mg% (P_3).

	Branco	P_1	P_2	P_3	Amostra
Padrão 100mg%	—	0,1	0,3	0,5ml	—
Solução da amostra	—	—	—	—	0,3ml
Água	0,5	0,4	0,2	—	0,2ml
Reagente Diazóico	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0ml
KOH 5M	—	0,5	0,5	0,5	0,5ml
Banho de água a 30°C por 5 minutos.					
KOH 5M	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5ml
Ler contra o branco em 405nm.					

CONDIÇÕES DA REAÇÃO

1. pH da reação

O pH 2,5 do reagente diazóico não satisfaz a reação de copulação. Assim, a adição de KOH estabelece o pH 9,7, favorecendo a cinética da reação.

2. Branco de reagentes

Quimicamente, o reagente diazóico é um sal de diazônio que em meio alcalino produz densidades ópticas entre 0,140 e 0,180 a 405nm. Estes valores determinariam pequenas leituras aos padrões e amostras, diminuindo em muito a sensibilidade do método.

O problema foi contornado mantendo o "branco" no pH ácido do reagente diazóico durante a incubação a 30°C. A alcalinização é feita somente ao final da reação, conforme mostra a técnica. Deste modo, obteve-se densidades ópticas baixas entre 0,040 e 0,075.

Aliás, o comprimento de onda escolhido, 405nm, absorve muito pouco o sal de diazônio, absorvendo significativamente o azocomposto produzido.

3. Padrões

Em todos os experimentos foram empregados padrões em três concentrações com o intuito de avaliar a precisão e a linearidade do método.

A exatidão foi analisada através de testes de recuperação.

4. Amostras

Foram experimentadas cinco amostras de matéria-prima de procedência comercial e uso industrial, sob a forma de solução (100mg%) em ácido oxálico 0,5%.

5. Cafeína

A função da cafeína é estabilizar a cor final, muito embora não se conheça o modo desta ação. Os álcoois metílico, etílico e isopropílico teriam atuação análoga, mas exigiriam altas concentrações¹¹.

CONCLUSÕES

Os resultados dos experimentos com soluções de amostras comerciais, através da metodologia proposta, mostraram concentrações reais em ácido ascórbico que oscilaram entre 78,2 e 88,3%.

Estes dados comprovam a necessidade de submeter a matéria a um prévio controle de qualidade. Desta forma, a indústria faria correções na adição de vitamina C ao produto final elaborado.

MATERIAL

Espectrofotômetro Perkin-Elmer Coleman 6/8 —
Júnior III com tubos 10 x 75 mm.
Banho de água estabilizado a temperatura de 30°C

REAGENTES

1. Cafeína 1,5%:
cafeína — 1,5g
água qsp — 100ml
2. Nitrito de sódio 5%:
nitrito de sódio — 5,0g
água qsp — 100ml
Guardar no refrigerador.
3. Ácido sulfanílico 2%:
ácido sulfanílico — 2,0g
ácido clorídrico conc. — 2,2 ml
água qsp — 100ml
4. Reagente Diazóico:
ácido sulfanílico (3) — 7,0 ml
nitrito de sódio (2) — 3,5 ml
cafeína (1) — 1,5 ml
Preparar no momento de uso; estável durante 2 horas a temperatura ambiente.
5. Hidróxido de potássio 5M:
hidróxido de potássio — 28g
água qsp — 100ml
6. Ácido oxálico 0,5%:
ácido oxálico — 0,5g
água qsp — 100ml
7. Padrão Ácido Ascórbico 100 mg %:
ácido ascórbico p.a. — 100mg
ácido oxálico (6) qsq 100,0 ml.

¹S.S. Raphael, Medical Laboratory Technology, W.B. Saunders Company, Third Edition, vol. 1, pages. 287-8, 1976.

²N.W. Tietz, Química Clínica Moderna, Nueva Editorial Interamericana S. A., 1ª Edición, págs. 174 a 177, 1972.

³J. H. Roe, and C. A. Kuether, The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenyl-hydrazine derivative of dehydroascorbic acid. "J. Biol. Chem." 147, 399 (1943).

⁴O. G. King, Chemical methods for determination of vitamin C Indust. Eng. Chem. Analyt. ed., 13, 225 (1941).

⁵M. Schmall, C. W. Pifer & E. G. Wollish, Determination of ascorbic acid by a new colorimetric reaction. "Analyt. Chem." 25, 1486 (1953).

⁶O. Pelletier, Determination of vitamin C in serum, urine and other biological materials. "J. Lab. & Clin. Med." 72, 674 (1968).

⁷P.J. Garry, et al, Automated analysis of Plasma and Whole Blood Ascorbic acid, "Clin. Biochem." 7, 131 (1974).

⁸W. C. Butts, and H. J. Mulvihill, Centrifugal Analyzer Determination of Ascorbate in Serum or Urine with Fe^{3+} /Ferrozine. "Clin. Chem." 21, 1943 (1975).

⁹L. S. Vann, A Rapid Micromethod for Determination of Ascorbic Acid in Urine by Ferric Reduction. Clin. Chem. 11, 979, 1965.

¹⁰C. R. Noller, "Química de los Compuestos Orgánicos" — pag. 687 Lopez Liberos Editores, II edición, 1968.

¹¹G. Michaelson & M. Michaelson, "A New Diazo Method for the Determination of Ascorbic Acid in Blood Plasma" "Scand J. Clin. Lab. Invest." 20, 97 (1967).