

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ – REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA NATUREZA
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA

JUCIANA CABRAL KLOSTER

EXPERIMENTO DE DETERMINAÇÃO DO TEOR DE VITAMINA C
UTILIZANDO PRODUTOS FARMACÊUTICOS PARA FINS DIDÁTICOS

Rio Branco

2013

JUCIANA CABRAL KLOSTER

**EXPERIMENTO DE DETERMINAÇÃO DO TEOR DE VITAMINA C
UTILIZANDO PRODUTOS FARMACÊUTICOS PARA FINS DIDÁTICOS**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura Plena em Química da Universidade Federal do Acre para a obtenção do grau de Licenciado em Química.

Orientador:
Rogério A. Sartori

Rio Branco
2013

JUCIANA CABRAL KLOSTER

**EXPERIMENTO DE DETERMINAÇÃO DO TEOR DE VITAMINA C
UTILIZANDO PRODUTOS FARMACÊUTICOS PARA FINS DIDÁTICOS**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura Plena em Química da Universidade Federal do Acre para a obtenção do grau de Licenciado em Química.

Aprovado em : ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rogerio Antonio Sartori (Orientador) – UFAC

Prof. Dr. Délcio Dias Marques – UFAC

Prof. Dr. Miguel Gustavo Xavier – UFAC

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO -----	6
1.1 Vitamina C -----	6
1.2 Absorção de luz -----	7
1.3 Problemática do tema -----	8
2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA -----	10
3. OBJETIVO -----	11
3.1. Gerais	
3.2. Específicos	
4. JUSTIFICATIVA -----	12
5. METODOLOGIA -----	13
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	14
7. CONCLUSÃO -----	19
REFERÊNCIAS -----	20
APÊNDICES -----	21

RESUMO

Foi elaborada uma prática que permite determinar o teor de ácido ascórbico em amostras de mandioca, usando dois medicamentos farmacêuticos que contêm vitamina C, ácido ascórbico que é utilizado como aditivo de alimentos (99,9% puro), além de dado teórico de coeficiente de absorção molar, ϵ , por medida direta em espectrofotômetro UV. Os dados foram comparados com o valor obtido por titulação iodométrica. As diferenças nos valores (erros absoluto e relativo) foram maiores nos produtos farmacêuticos, e menores usando-se o valor teórico. A prática se mostrou satisfatória para ser aplicada no curso de graduação em Química da UFAC pois abrange diversos conceitos de Química e utilização de equipamento (espectrofotômetro).

Palavras-chave: vitamina C, ácido ascórbico, absorptividade molar, ensino de química

ABSTRACT

A experiment was developed for the determination of ascorbic acid in samples of cassava using two pharmaceutical drugs that contain vitamin C, ascorbic acid which is used as a food additive (99.9% pure), as well as theoretical coefficient molar absorption, ϵ , by direct measurement in UV spectrophotometer. The data were compared with the value obtained by iodometric titration. The differences in values (absolute and relative errors) were higher in pharmaceuticals and minor using the theoretical value. The practice proved satisfactory to be applied in the undergraduate degree in Chemistry of UFAC as it covers several concepts of chemistry and use of equipment (spectrophotometer).

Keywords: vitamin C, ascorbic acid, molar absorptivity, chemistry teaching

1. INTRODUÇÃO

1.1. Vitamina C

Não é de hoje que a vitamina C é considerada de suma importância na natureza, esse composto descoberto por volta de 1928 e sintetizado completamente em 1935 por Haworth, Hirst e Szent-Györgyi, se tornou a chave para o fim do escorbuto (doença gerada pela ausência de vitamina C no organismo), que se tornou uma verdadeira epidemia no fim da Idade Média sendo responsável por muitas baixas do povo europeu, atingindo principalmente as tripulações durante as navegações, devido a falta de alimentos frescos e que continham a vitamina. A doença que é responsável pela fragilidade de vasos sanguíneos e danos ao tecido colágeno, possui sintomas como: gengivas inchadas e com sangramento fácil, sangramentos subcutâneos, dentes suscetíveis a quedas, e lenta cicatrização. Até mesmo Vasco da Gama ao contornar o Cabo da Boa Esperança por volta de 1498 chegou a perder metade de sua tripulação por causa da doença, e Luis Camões relata sobre a doença em um de seus escritos mais famosos, Os Lusíadas (1572).

*E foi que, de doença crua e feia,
A mais que eu nunca vi, desampararam
Muitos a vida, e em terra estranha e alheia
Os ossos para sempre sepultaram.
Quem haverá que, sem o ver, o creia,
Que tão disformemente ali lhe incharam
As gengivas na boca, que crecia
A carne e juntamente apodrecia?*

*Apodrecia cum fétido e bruto
Cheiro, que o ar vizinho inficionava.
Não tínhamos ali médico astuto,
Cirurgião sutil menos se achava;
Mas qualquer, neste ofício pouco instruto,
Pela carne já podre assim cortava
Como se fora morta, e bem convinha,
Pois que morto ficava quem a tinha.(1)*

A partir do século XVII, com a introdução da batata na alimentação europeia, além da descoberta de outras frutas e verduras que continham essa vitamina, a incidência da doença começa a diminuir.

Hoje o ácido ascórbico, como também é conhecida a vitamina C tem esse nome justamente pela sua ação no escorbuto. Essa ação antiescorbútica se dá pelo isômero L-ascórbico, um forte agente redutor que age no organismo como um bom antioxidante isso significa que ele protege outras espécies químicas de se oxidarem, em razão do seu próprio sacrifício. Porém é uma vitamina que é facilmente degradada e por isso é um tanto difícil isolá-la. (2)

Esta vitamina é encontrada em alimentos como frutas cítricas, tomate, morango, kiwi, pimentões, couve-flor, manga, batatas, batata-doce, rúcula, alface, goiaba, alho, brócolis, entre outros. Além do seu papel em nosso organismo o ácido ascórbico é largamente utilizado como antioxidante nas indústrias alimentícias, para preservar por mais tempo a cor e o sabor desses alimentos, e em bebidas como: sucos, refrigerantes entre outros, é usada para enriquecimento nutricional. (1)

É um composto sólido cristalino branco, solúvel em água e que possui uma estrutura de seis carbonos e é sintetizado dos vegetais a partir da galactose e da glicose. No entanto, nós seres humanos não possuímos a enzima responsável pela biossíntese da vitamina C, a L-gulonolactona oxidase, assim é necessária a ingestão diária dessa vitamina em nossa dieta alimentar. A vitamina C possui as mais variadas funções, além de agente antioxidante, também é necessária para a síntese do colágeno e de importantes neurotransmissores como a norepinefrina, obtidos a partir da serotonina e dopamina. E em estudos mais recentes se soube que ela também auxilia na prevenção do câncer, diminuição de doenças cardiovasculares e da hipertensão. (3)

1.2. Absorção de luz

A luz incidente sobre um sistema pode ser refletida, transmitida, refratada e espalhada ou absorvida. A fração de luz incidente absorvida depende da espessura do meio percorrido. A equação descrita por Lambert pode ser expressa como (4)

$$-dI/I = bdx$$

onde I é a intensidade de luz na distância x de sua entrada no meio e b é o coeficiente de absorção neperiano. Integrando-se a equação com a condição $I = I_0$ para $x = 0$, tem-se que

$$I = I_0 e^{-bx}$$

Ou

$$\ln(I/I_0) = \ln T = -bx$$

onde T é a *transmitância interna*. Se forem usados logaritmos decimais

$$\log(I/I_0) = \log T = -ax$$

sendo a o coeficiente de absorção linear, ou simplesmente coeficiente de absorção.

Em 1852, Beer mostrou que, para muitas soluções de compostos absorventes em solventes, o coeficiente a é proporcional à concentração do soluto c . Assim a lei de Beer é

$$\log(I/I_0) = -\epsilon xc$$

onde c é a concentração molar e ϵ é o *coeficiente de absorção (ou absortividade) molar*.

A absorbância (ou absorvância) é definida como o logaritmo do inverso da transmitância

$$Abs = \log(1/T)$$

Dessa forma, a lei combinada de Lambert-Beer pode ser escrita como

$$Abs = \epsilon xc$$

Sendo x o caminho óptico no qual a luz passa pela amostra.

1.3. Problemática do tema

Com temas tão ricos e importantes como esses, novos projetos devem ser desenvolvidos para que se possa usufruir de técnicas as quais possam ser aplicadas na determinação de algo. E olhando um pouco além, a melhor forma de se aprender sobre algo é estudando sobre o assunto, por isso há interesse em fazer com que não só esse, mas diversos outros temas sejam trabalhos no ensino de graduação de Química, visando à formação de profissionais e sua eventual atuação como professores.

Principalmente na área das ciências exatas, há inúmeros assuntos que são de certo modo negligenciados pela falta de algum tipo de atividade para promover a contextualização e concretização dos conteúdos trabalhados nas universidades. Essa é uma preocupação constante dos profissionais que trabalham com o desenvolvimento e melhora do ensino. A experimentação tem por objetivo demonstrar fenômenos, formular hipóteses, coletar dados, comprovar a teoria na prática, desenvolver a observação e o senso crítico. Porém não é o que se tem visto no ensino atualmente, em se tratando de formação de professores sabe-se bem que muitos cursos deixam a desejar, por não conseguirem suprir as necessidades de seus alunos, seja no âmbito de estrutura física, de corpo docente, de didática de ensino ou no material didático e de laboratório, além da deficiência em conhecimentos básicos, trazidos pelos próprios discentes oriundos do Ensino Médio.

Um problema apresentado não só nos cursos de Química, bem como em todas as outras ciências exatas e da natureza, é a distância entre as disciplinas de caráter científico e as pedagógicas, que são tratadas cada qual à sua maneira e não de forma contextualizada, multidisciplinar e complementar como deveriam.

O ensino, mesmo na graduação ainda caminha sobre as linhas tradicionalistas, de que a prática segue um roteiro e que possui um objetivo e que tem um resultado já conhecido para meramente comprovar a teoria. E no caso de alguma alteração, logo se comenta que algo deu errado ou que alguém não fez certo. Descartando o experimento e abrindo mão de um dos princípios básicos da química, que é de analisar, investigar e formular hipóteses.

A educação em química hoje é indispensável, por se tratar de uma forma de entender e modificar tudo que nos rodeia, todos os processos, os fenômenos, as transformações e toda a matéria e a natureza a nossa volta. Dessa forma toda e qualquer proposta de mudança, renovação e melhoria para esse ensino devem ser bem vinda.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na literatura são encontrados diversos artigos relacionados às formas de estudo da vitamina C, e técnicas utilizadas para isso. Um exemplo é o trabalho de Selimović *et al.*, onde o oxalato de sódio é utilizado como estabilizante, para evitar a degradação da vitamina C durante sua determinação no espectrofotômetro. (5)

No trabalho de Karayanis *et al.* (6), os autores realizaram um estudo do espectro do ácido ascórbico em diferentes soluções tampões de vários pH. Esse estudo da absorvidade molar demonstra que com a mudança do pH o ácido passa a absorver em uma região diferente no espectro. (6)

Há ainda o método de espectrofotometria derivada, de Aydogmus *et al.* (7), que se baseia em medições de distâncias entre valores de picos de amplitude em espectros de segunda e terceira ordem derivada dos extratos.

O trabalho de Shrivast *et al.* (8) mostra um método de determinação indireta do ácido ascórbico em bebidas, frutas e produtos farmacêuticos.

3. OBJETIVOS

3.1. Gerais:

Buscar novos métodos de experimentação para suprir e auxiliar na formação de professores de química, para promover a ampliação do conhecimento e construção.

3.2. Específicos:

Propor nova técnica simples, rápida e direta para ser aplicada no ensino de graduação em química para determinação de vitamina C em alguns materiais.

Aprimorar o uso de espectrofotômetro UV-Vis pelos discentes.

Desenvolver um roteiro prático do experimento.

4. JUSTIFICATIVA

Este trabalho tem como intuito auxiliar numa melhor formação do aluno de química, promovendo uma nova experimentação de um conteúdo que atualmente, na Universidade Federal do Acre não é trabalhado em nenhuma das práticas durante sua formação. Além disso, esse experimento visa ainda a facilidade de execução e compreensão, disponibilidade de reagentes (sendo esses de relativo baixo custo), e ainda a contextualização desses conceitos.

Usado também para promover o uso das técnicas de espectroscopia, as quais são insuficientes durante toda a graduação em Química na UFAC.

5. METODOLOGIA

O método utilizado neste trabalho é baseado nos artigos científicos de Selimović *et al.* (5) e Karayaniset *al.* (6). Foram usadas vitaminas C provenientes de dois medicamentos comerciais, vendidos em farmácias comuns, das marcas Citroplex 500 mg e Cebion 2 g; também foi usada vitamina C pura, grau de alimento, 99,9 % de ácido ascórbico, importada do fabricante NuSci. Para o preparo da solução tampão 5,4 foram usados os sais hidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4) e diidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4). Como estabilizante da vitamina C em solução foi adicionado oxalato de sódio.

Duas amostras de mandioca (*Manihot esculenta* L.), da variedade conhecida popularmente no Acre como manteiguinha, foram usadas para se determinar o teor de ácido ascórbico.

O experimento proposto foi realizado de três formas diferentes, como seguem:

- a) Determinação de vitamina C em mandioca pela equação teórica, utilizando o dado de absorvidade molar do ácido ascórbico em 266 nm, no pH 5,4, de acordo com o trabalho de Karayanis et al. (6).
- b) Determinação de vitamina C em mandioca pela curva de calibração obtida com vitamina C pura.
- c) Determinação de vitamina C em mandioca pela curva de calibração obtida com vitaminas C de medicamentos.

O ácido ascórbico foi retirado das amostras de mandioca por meio de trituração em almofariz, seguido de filtração. Para cada amostra pesou-se uma quantidade de mandioca relativa à uma quantidade aproximada que pudesse fornecer cerca de 20 mg de vitamina C por 100 gramas de amostra (previsão teórica).

As soluções padrões foram preparadas pesando-se a vitamina C em quantidades que fornecessem concentrações na faixa de 2,4 – 20,0 ppm.

Os teores de vitamina C obtidos pelos experimentos acima foram comparados com aqueles determinados por titulação (método do iodeto), conforme norma encontrada na apostila do instituto Adolfo Lutz (9) e realizados previamente em trabalho de iniciação científica na UFAC.

Os erros absolutos e relativos de cada método foram determinados de acordo com equação encontrada em Baccanet *et al.* (8):

$$E = X - X_v \quad \text{e} \quad E_r = E/X_v$$

Onde E é o erro absoluto e E_r é o erro relativo; X é o valor medido e X_v é o valor verdadeiro.

As medidas de absorvância foram feitas em espectrofotômetro da marca Shimadzu modelo UV1650PC. Os gráficos e os cálculos de regressão linear das curvas de calibração foram feitas no programa MicrocalOrigin, versão 7.0.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso direto de técnica UV para a determinação do teor de vitamina C em solução não é muito fácil devido principalmente à sua instabilidade em soluções aquosas. A instabilidade do ácido ascórbico é devido a sua oxidação, tornando-o ácido desidroascórbico, o qual é uma reação reversível, e conseqüentemente leva ao ácido 2,3-dicetogulônico (Figura 1). Esta última etapa é irreversível, o que leva à degradação da vitamina C. No entanto, essas reações podem ser inibidas usando-se substâncias chamadas de estabilizantes.

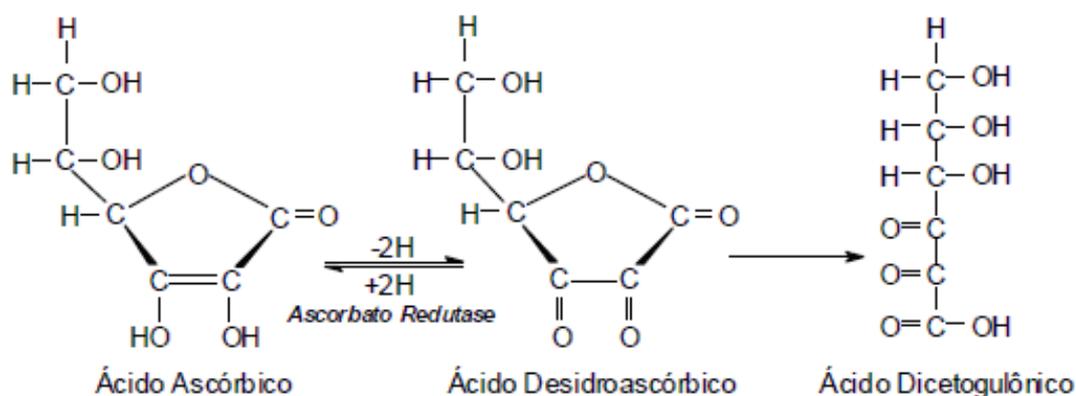


Figura 1. Reações de instabilidade da molécula do ácido ascórbico.(11)

Neste trabalho foi utilizado como estabilizante o oxalato de sódio, conforme trabalho de Selimović *et al.* (5). A solução tampão em conjunto com o estabilizante foi utilizada no preparo das soluções padrões e também na extração do ácido ascórbico das amostras de mandioca.

O tampão mantido em pH 5,4 é imprescindível para se manter a absorção molecular da vitamina C em 265-266 nm, conforme mostrado por Karayanis *et al.* (6)

A Figura 2 mostra o espectro do ácido ascórbico com o máximo de absorvância em 266 nm, obtido da vitamina C pura da NuSci.

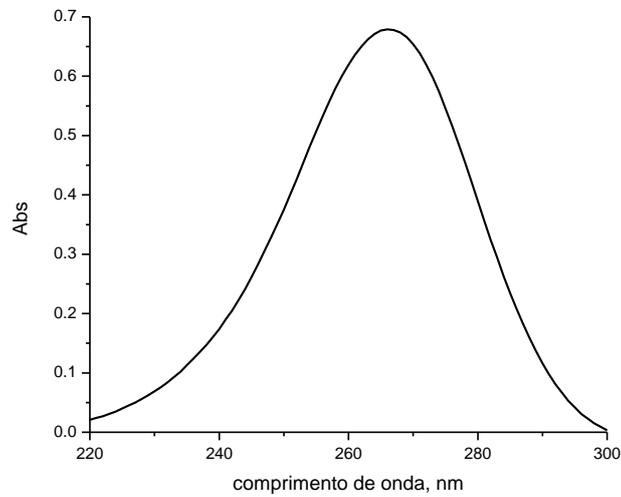
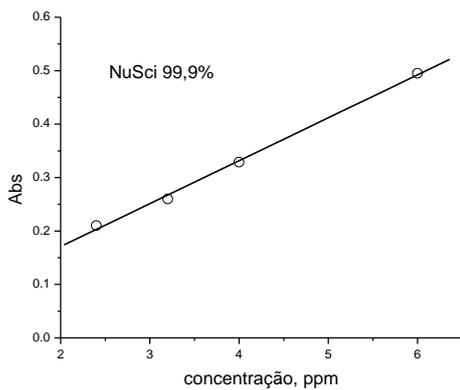
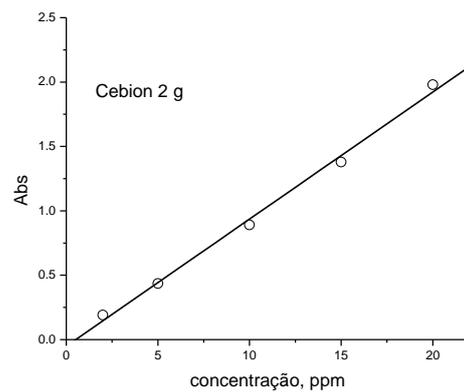


Figura 2. Espectro do ácido ascórbico (NuSci, 99,9%), concentração 6 ppm.

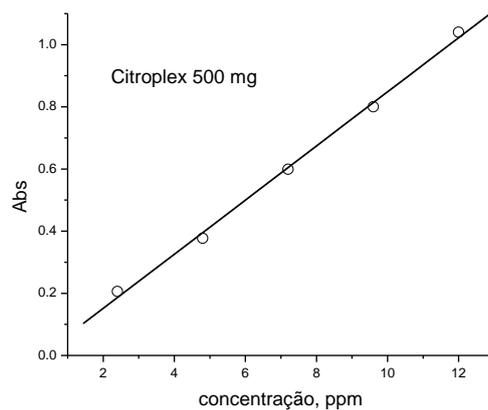
As curvas de calibração, em várias concentrações de ácido ascórbico, obtidas para os produtos com vitamina C estão mostradas na Figura 3. Vale citar que as soluções com os medicamentos foram preparadas em concentrações definidas, considerando a informação do fabricante como sendo 100% confiável.



(a)



(b)



(c)

Figura 3. Curvas de calibração para produtos com vitamina C. (a) NuSci; (b) Cebion 2 g; (c) Citroplex 500 mg.

A Tabela 1 sumariza os dados obtidos das curvas de calibração acima, com o coeficiente de absorvidade molar, ϵ , expresso nas unidades de $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

A partir desses resultados, foram determinados os erros dos valores encontrados de ϵ , com relação ao valor da literatura, de $13.800 \text{ dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Esse procedimento forneceu os valores encontrados na Tabela 2.

Tabela 1. Dados das regressões lineares das curvas de calibração de soluções contendo ácido ascórbico em tampão de Na_2HPO_4 , $8,99 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ e KH_2PO_4 , $0,03 \text{ mol dm}^{-3}$ (pH 5,4) e estabilizante $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ $0,0056 \text{ mol dm}^{-3}$.

Vitamina C	Coefficiente linear	Coefficiente angular, ϵ ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	Coefficiente de correlação da curva, r
NuSci	0,01008	14.150,6	0,99875
Cebion	-0,05073	17.371,3	0,99761
Citroplex	-0,0229	15.342,7	0,99858
Teórico(6)	--	13.800	--

Tabela 2. Erros absoluto e relativo dos valores experimentais de ε em relação ao valor teórico.

Vitamina C	Erro absoluto	Erro relativo (%)
NuSci	350,6	2,54
Cebion	3.571,3	25,9
Citroplex	1.542,7	11,2

Comparando os erros dos valores de ε , nota-se que o mesmo é significativamente menor para a solução que contém ácido ascórbico mais puro, usado como aditivo em alimentos, do que aqueles presentes em medicamentos. Vale lembrar que esse tipo de material, apesar de não ser trivial em ser encontrado, é bem mais barato do que ácido ascórbico puro, para análise.

Se fossem tomados esses erros como um desvio na concentração de ácido ascórbico nos produtos comerciais, então, poder-se-ia calcular a quantidade real de ácido presente em cada comprimido (Cebion e Citroplex) e no produto em pó (NuSci). A determinação da concentração real de ácido ascórbico nos produtos acima, por titulação iodométrica, também poderia corrigir a quantidade de ácido e poderia se obter menores erros nas curvas. No entanto, isso extrapola ao objetivo do trabalho que visou um método mais simples e direto.

Em seguida, foram feitas medidas em soluções que continham ácido ascórbico em amostras de mandioca. Neste caso, foram usados como parâmetros, os dados obtidos por titulação com iodeto, de outro trabalho, apenas como elemento comparativo.

As soluções foram obtidas pela extração da vitamina C presente nas amostras de mandioca com a solução estabilizante (oxalato + tampão), que após filtragem foram medidas diretamente no espectrofotômetro. Os valores de absorbância obtidos foram então usados nas diferentes equações obtidas dos experimentos descritos anteriormente para se calcular o teor de ácido ascórbico. A Tabela 3 sumariza esses resultados.

Tabela 3. Teores de ácido ascórbico (mg de vitamina C/100 g de amostra) obtidos por titulação iodométrica e por medida direta de espectroscopia UV; massa de amostra = 50 g (amostra úmida); volume da solução = 1 L; valores de absorbância medidos: 0,954 amostra; 0,801 amostra B.

Amostra	Titulação	Cebion	Citroplex	NuSci	Teórica
A	25,0	20,4	22,4	23,5	24,3
B	22,0	17,3	18,9	19,7	20,4

Com os dados acima também foram calculados os erros, tomando como valor verdadeiro aqueles obtidos por titulação iodométrica (Tabela 4).

Tabela 4. Erros absoluto e relativo para as medidas de teores de ácido ascórbico em amostras de mandioca por espectroscopia UV usando vários métodos.

Amostras	Cebion		Citroplex		NuSci		Teórica	
	Absol.	Rel. (%)	Absol.	Rel. (%)	Absol.	Rel. (%)	Absol.	Rel. (%)
A	-4,6	18,4	-2,6	10,4	-1,5	6	-0,7	2,8
B	-4,7	21,4	-3,1	14,1	-2,3	10,5	-1,6	7,3

Pode-se notar pelos resultados que dos produtos com vitamina C, aquele com menores erros nas análises foi justamente aquele com maior pureza, o que parece ser em princípio bem óbvio. Ainda assim, erros da ordem de 10% podem ser significativos em análises científicas. No entanto, para caráter didático, a prática poderia ser considerada.

Dentre as vitaminas C de medicamentos, a da marca Citroplex foi a que apresentou menor erro.

O que mais surpreendeu, no entanto, foram os valores obtidos através do cálculo direto com a equação de Lambert-Beer teórica, com o valor de ϵ obtido da literatura para o ácido ascórbico em 266 nm e pH 5,4. Os erros foram significativamente menores nesses casos. Se fosse adotada essa metodologia, a prática seria sensivelmente mais direta e mais rápida. No entanto, vale considerar que este trabalho não tem dados estatísticos suficientes para se afirmar isso com precisão.

Cabe ressaltar que durante o preparo das soluções de amostras de mandioca, sempre pode ocorrer perda de material devido à trituração, se não for feito com cuidado.

Foi criada também uma proposta de roteiro experimental para uma prática para determinação de vitamina C em amostras de alimentos, de forma geral, e a mesma pode ser vista no Apêndice deste trabalho.

7. CONCLUSÃO

Através dos experimentos, pode-se concluir que o uso de medicamentos comerciais comuns, como padrão para vitamina C, pode ser usado com critério, para algumas análises que não necessite de uma acuracidade muito elevada, como é o caso de práticas didáticas. O uso da vitamina C da NuSci, mais pura, pode ser mais confiável em análises, desde que seja feita uma padronização inicial, para se atestar seu real teor de ácido ascórbico, uma vez que se trata de produto na forma de pó, mais homogêneo do que comprimidos que possam ter quantidades diferentes de ácido de um para outro.

Mas, além dos resultados em si, vale citar que o seu desenvolvimento, que envolve preparo de soluções, conceito de solução tampão, uso de equipamento mais sofisticado, como espectrofotômetro UV-Vis, criação de gráficos e tratamento de dados, cálculos, tudo isso traz resultados consideráveis no aprendizado do aluno de graduação.

Dessa forma, foi entendido que essa prática poderia ser aplicada satisfatoriamente em disciplinas como Química Analítica Quantitativa, Química Geral Experimental, Fotoquímica (optativa) ou Análise Instrumental.

8. REFERÊNCIAS

1. FIORUCCI, A. R. , SOARES, M. H. F. B. e CAVALHEIRO, E. T. G. A importância da vitamina C através dos tempos. *Química Nova na Escola*, n. 17, p. 3- 7, 2003.
2. FOGAÇA, J. R. V. Ácido Ascórbico da Vitamina C como Agente Redutor. Disponível em :<<http://www.mundoeducacao.com.br/quimica/acido-ascorbico-vitamina-c-como-agente-reductor.htm>>. Acesso em: 15/04/2013, 08:54.
3. LAVARDA, L. DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA DA VITAMINA C EM POLPA DE ACEROLA VIA AQUECIMENTO ÔHMICO. Trabalho de diplomação em engenharia química, Porto Alegre, Julho de 2011, p. 10. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/36905/000793033.pdf?sequence=1>> Acesso em:12/04/2013 13:19.
4. MOORE, W.J. *Físico-Química*, Vol: 2, Tradução da 4ª edição americana/Helena Li Chun (e outros), São Paulo: Edgard Blücher, 2008.
5. SELIMOVIC, A. (et al.) *Direct spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in pharmaceutical preparations using sodium oxalate as a stabilizer*. International Journal of Basics & Applied Sciences. Vol: 11, n. 2, p. 125-131, 2011.
6. KARAYANNIS, M.I.(et al.) *A study of the molar absorptivity of ascorbic acid at different wavelengths and pH values*. Analytica Chimica Acta. n.93, p. 275-279, 1977.
7. AYDOGMUS, Z. et al. M. *Determination of Ascorbic Acid in Vegetables by Derivative Spectrophotometry*. Turkish Journal of Chemistry, 697- 704, N° 26, 2002
8. SHRIVAS, Ket al. *A Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 2005, n°52, p 503-506.
9. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. v. 1, 3ª ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 393.
10. BACCAN, N.(et al.) *Química analítica quantitativa elementar*, 3ª edição, São Paulo: Edgard Blücher, 2001.
11. PEREIRA, V. N. *Ácido Ascórbico – características, mecanismos de atuação e aplicações na indústria de alimentos*. Trabalho acadêmico do Curso de Bacharelado em Química de Alimentos da UFPEL, Pelotas, 2008.

APÊNDICE

Prática: Determinação do teor de vitamina C em alimentos por espectroscopia UV direta.

Objetivo: Medir o teor de ácido ascórbico, em *mg de ácido/100 g de amostra*, por método direto de espectroscopia UV, usando produtos farmacêuticos como padrões.

Materiais e reagentes:

Balões volumétricos de 1000, 500 e 50 mL.

Micropipeta de 0-200 µL.

Balança analítica.

Espectrofotômetro UV (de varredura ou pontual).

Hidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4).

Diidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4).

Oxalato de sódio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$).

Produto farmacêutico de vitamina C.

Alimentos que contenham vitamina C (mandioca, palmito, alimentos industrializados, frutas, etc.).

Metodologia:

-Preparo da solução estabilizante: pese 4,0800 g de KH_2PO_4 e 0,1600 g de Na_2HPO_4 e 0,7500 g de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ em 1000 cm³ de água destilada.

-Preparo das soluções padrões: pese uma quantidade do comprimido que forneça 0,0250 g de ácido ascórbico (basear-se no rótulo do produto). Dissolva essa massa em 500 mL da solução estabilizante. Realize diluições a partir dessa solução original para obter soluções de concentração entre 2-20 ppm (mg L^{-1}), usando os balões de 50 mL (utilize sempre a solução estabilizante para completar os volumes das soluções).

-Preparo das amostras de alimentos: triture uma massa do alimento que contenha aproximadamente 5 mg de vitamina C (estimativa com dados da literatura) em um almofariz com uma quantidade da solução estabilizante. Filtre a solução em um balão volumétrico de 250 mL e complete o volume final também utilizando a solução estabilizante.

-Medidas no espectrofotômetro: faça medidas das soluções padrões, a partir da mais diluída para a mais concentrada, no aparelho, varrendo o espectro entre 200-300 nm. Anote os valores da absorvância máxima em 266 nm (caso use um espectrofotômetro pontual, faça a medida direta em 266 nm). Meça igualmente a absorvância da solução da amostra.

-Curva de calibração e cálculos: construa a curva de calibração, *Abs(266 nm) versus concentração (ppm)*. Faça a regressão linear da curva para obter os parâmetros de coeficientes angular e linear. Com uso da equação da reta obtida, calcule a concentração de ácido ascórbico da amostra de alimento.

Compare com a concentração obtida pela equação teórica

$$Abs = 13.800 (L mol^{-1} cm^{-1})(1 cm) c$$

Onde c é a concentração em mol L⁻¹.

Atenção para as unidades empregadas