

***ANÁLISE QUANTITATIVA DE ÁCIDO ASCÓRBICO
(VITAMINA C) EM FÁRMACOS***

Quantitative Analysis of Ascorbic Acid (Vitamin C) in Drugs

Tereza Cristina Rodrigues Elsholz¹, Olaf Elsholz², Maria Cristina Moreira Penna³

RESUMO

Este trabalho envolve o estudo e desenvolvimento de método analítico para determinação espectrofotométrica de ácido ascórbico (vitamina C) em fármacos. As medidas foram efetuadas com fotômetro LED de luz vermelha e comparadas com espectrofotômetro comercial. Os resultados obtidos a 580nm no espectrofotômetro comercial mostram a seguinte equação: $A = 0,2089 C + 0,0001$, onde A refere-se ao valor da absorbância obtida pela equação $\text{Absorbância} = -\log(I/I_0)$, e o desvio padrão $R^2 = 0,998$. O método envolve utilização de equipamentos simples, de baixo custo e de fácil manuseio e pode ser utilizado para a determinação quantitativa de espécies químicas de interesse em análises farmacêuticas.

Palavras-chave: Fotometria. Fotômetro LED. Ácido Ascórbico. Vitamina C.

ABSTRAT

This work involves the study and development of analytical method for spectrophotometric determination of ascorbic acid (vitamin C) in drugs. The measurements were made using a red LED photometer and compared with commercial spectrophotometer. The results obtained in commercial spectrophotometer at 580nm show the following equation: $A = 0.2089 C + 0.0001$, where A refers to the absorbance value obtained by equation $\text{absorbance} = -\log(I/I_0)$, R^2 and standard deviation = 0.998. The method involves use of simple equipment, low cost and easy to handle and can be used for the quantitative determination of chemical species of interest in pharmaceutical analysis.

Keywords: Photometry. LED photometer. Ascorbic Acid. Vitamin C.

INTRODUÇÃO

O ácido ascórbico (Vitamina C) é uma das 13 principais vitaminas que fazem parte de um grupo de substâncias químicas complexas necessárias para o funcionamento adequado do organismo. É um sólido cristalino de cor branca, inodoro, hidrossolúvel e pouco solúvel em solventes orgânicos¹.

O ácido ascórbico (ascorbato $C_6H_8O_6$, quando na forma ionizada) é uma molécula usada na hidroxilação de várias outras em reações bioquímicas nas células. A sua principal função é a hidroxilação do colágeno, a proteína fibrilar que dá resistência aos ossos, dentes, tendões e paredes dos vasos sanguíneos. Além disso, ácido ascórbico tornou-se popular em virtude do seu papel como antioxidante, com potencial de oferecer proteção contra algumas doenças e contra os aspectos degenerativos do envelhecimento. É um poderoso antioxidante, sendo usado para transformar os radicais livres de oxigênio em formas inertes. É também usado na síntese de algumas moléculas que servem como hormônios ou neurotransmissores². A melhor maneira de se obter a quantidade necessária desta vitamina é através da alimentação. Daí a importância de se fazer uma análise descritiva quantitativa, por proporcionar uma completa descrição de todas as propriedades sensoriais de um produto.

Existem diversas técnicas propostas na literatura para a identificação, caracterização e quantificação de ácido ascórbico³, incluindo fotometria⁴, HPLC⁵, micrifluorimétrico⁶, métodos enzimáticos⁷. Apesar destas metodologias serem adequadas e recomendadas, em sua maior parte trata-se de métodos que apresentam longo tempo de análise. Neste sentido, a avaliação da qualidade dos medicamentos na Indústria Farmacêutica representa uma etapa indispensável para a sua comercialização.

O presente trabalho propõe o desenvolvimento de método analítico utilizando análises espectrofotométricas de baixo custo para quantificar propriedades químicas em medicamentos, principalmente programar possíveis ações de controle da utilização desses compostos envolvendo equipamentos simples e de fácil manuseio⁸⁻⁹.

O referido trabalho também tem sido realizado em cooperação dos estudantes de Engenharia Ambiental da Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg – HAW Hamburg e dos estudantes de engenharia elétrica e biologia da FEIT/UEMG. São realizados minicursos para alunos e professores de ensino médio, no laboratório de química instrumental da HAW Hamburg – campus Bergedorf. Os minicursos envolvem a construção de Fotômetros LED pelos estudantes de ensino e aplicação da metodologia para identificação de fármacos (AAS), biomoléculas (albumina) e íons (amônia, nitrito, fosfato). Os resultados obtidos pelos estudantes da HAW Hamburg têm sido comparados com os obtidos pelos estudantes da FEIT/UEMG¹⁰.

MATERIAL E MÉTODOS

Calibração dos Espectrofotômetros

Os fotômetros LED modelo Elsholz de luz monocromática verde de números de série PM01-FC-108 e PM01-FC-109 foram utilizados para as análises. O fotômetro LED consiste de uma fonte de luz monocromática e um foto detector (fotodiodo - IC) como sensor da luz, ambos necessitam apenas de um resistor com limite de corrente. O fotômetro possui um visor digital que mostra as medidas de corrente indicadas pelo fotodiodo IC.

Calibração do fotômetro LED

Utilizou-se a solução padrão de Azul de Bromotimol (ABT) 1,0 g/L.

Preparo da solução estoque de azul de bromotimol 1,0 g/L

Pesou-se 100,0 mg do indicador azul de bromotimol e dissolveu-se em 30,0 mL de etanol. Transferiu-se para um balão volumétrico de 100,0 mL e completou-se o volume com água deionizada. As soluções padrões de ABT foram preparadas diluindo a solução estoque nas seguintes concentrações: 0,01; 0,03; 0,05; 0,07; 0,09; 0,10; 0,15 e 0,20 g/L. Mediu-se a transmitância de cada solução no fotômetro LED e calculou-se a absorbância segundo Lambert

e Beer ($Abs. = -\log(I/I_0)$), usando diretamente os valores das correntes elétricas medidas. Este procedimento foi aplicado com a hipótese de que a corrente da luz é diretamente proporcional à corrente elétrica, usando o valor de água como branco. A partir disto, obteve-se o gráfico da curva de calibração adicionou-se diretamente na cubeta, as soluções com os respectivos volumes, de acordo com a tabela 1.

Tabela 1: quantidade de soluções adicionadas nas cubetas para determinação de ácido ascórbico.

Tubo Nº	Ácido ascórbico	Água deionizada	Cromato de potássio
0	2,0 mL	1,0 mL	0,1 mL
1	1,8 mL	1,2 mL	0,1 mL
2	1,4mL	1,6 mL	0,1 mL
3	1,2 mL	1,8 mL	0,1 mL
4	1,0 mL	2,0 mL	0,1 mL
5	0,5 mL	2,5 mL	0,1 mL
6	0,0 mL	3,0 mL	0,1 mL
7	2,0 mL medicamento	1,0 mL	0,1 mL

As absorbâncias foram calculadas segundo Lambert e Beer. Com utilização do software Microsoft Enterprise Excel 2007 da Windows Company®, obteve-se o gráfico da curva de calibração.

Determinação de Acidez total Titulável e pH

As determinações de acidez total titulável e pH foram realizadas de acordo com a AOAC.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em cooperação Brasil e Alemanha entre UEMG/FEIT e HAW Hamburg, vários experimentos têm sido feito em cooperação entre estudantes e professores da FEIT/UEMG (Dra. Tereza Cristina Rodrigues Elsholz) e HAW Hamburg (Dr. Olaf Elsholz) e do projeto para construção e aplicação de fotômetros LED por estudantes de ensino médio. Figuras 1a, 1b, 1c.



Figura 1a



Figura 1b



Figura 1c

Figura 1a: Fotômetros LED construídos por estudantes do ensino médio de Hamburgo (Alemanha). **Figura 1b:** Prof. Dr. Olaf Elsholz e Profa. Dra. Tereza Cristina Rodrigues Elsholz no laboratório de eletrônica, na construção dos fotômetros LED. **Figura 1c:** Grupo de estudantes de graduação e professores do projeto de aplicação de fotometria em escolas do ensino médio, no laboratório de química instrumental da HAW Hamburg.

O cálculo da absorbância é desenvolvido utilizando o valor da corrente (I) e a corrente da linha base (I_0) pela fórmula: Absorbância = - logaritmo (I/I_0). Os valores obtidos nos fotômetros LED modelo Elsholz foram comparados com o espectrofotômetro comercial. As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica da Fundação Educacional de Ituiutaba – FEIT / Universidade do Estado de Minas Gerais – UEMG (FEIT/UEMG).

A determinação de vitamina C foi obtida utilizando diferentes concentrações de ácido ascórbico na presença de cromato de potássio 1,5% e a absorbância foi medida utilizando o fotômetro comercial (Figura 2).

Os resultados obtidos a 580nm no espectrofotômetro comercial mostram a seguinte equação: $A = 0,2089 C + 0,0001$, onde A refere-se ao valor da absorbância obtida pela equação Absorbância = - logaritmo (I/I_0), e o desvio padrão $R^2 = 0,998$.

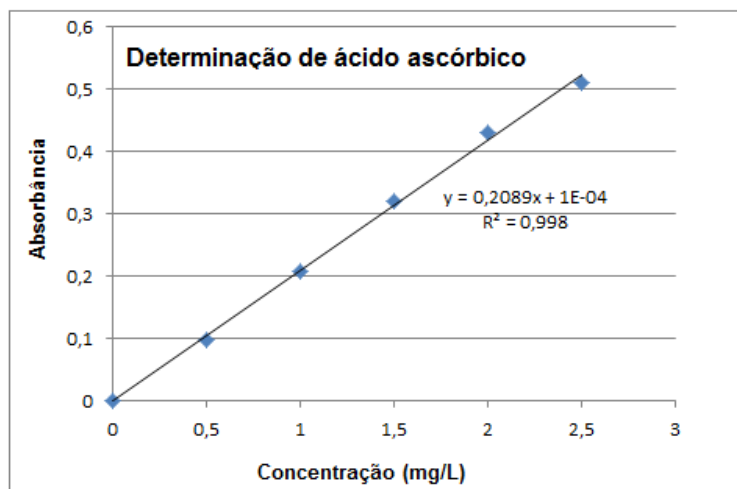


Figura 2. Curva de calibração com os valores de absorbância para as diferentes concentrações da solução de vitamina C, obtidos pelo fotômetro LED.

Comparou-se os resultados obtidos pelo espectrofotômetro comercial e os resultados obtidos pelo fotômetro LED. Os resultados obtidos pelo fotômetro LED estão representados pela figura 3.

Para o fotômetro LED de luz vermelha, obteve-se uma curva de calibração $A = 0,1286C + 0,0023$ e desvio padrão de $R^2 = 0,9977$.

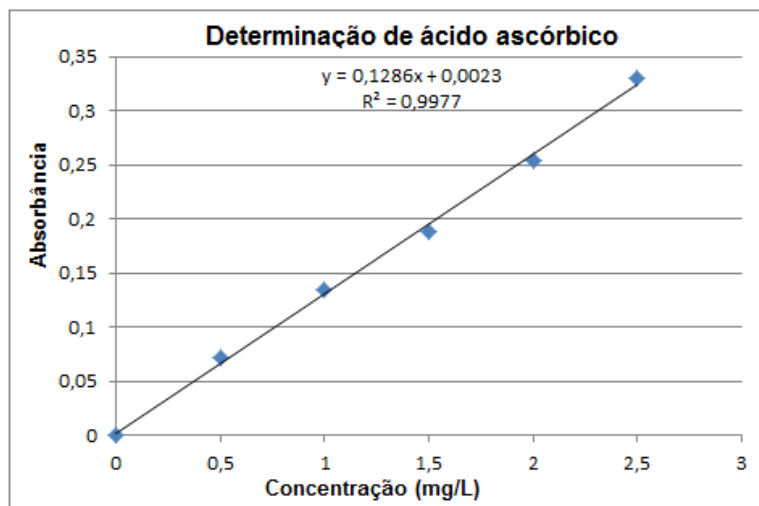


Figura 3: Curva de calibração com os valores de absorbância para as diferentes concentrações da solução de vitamina C, obtidos pelo espectrofotômetro comercial.

A solução preparada com 2,5 mL do medicamento apresentou pH igual a 6.2.

Para o comprimido analisado, encontrou-se uma massa de 239,5 g de ácido ascórbico para medidas realizadas com o espectrofotômetro comercial e 242,0 g para medidas realizadas com o fotômetro LED.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram que o procedimento da análise é bem aplicável na faixa de 500 a 600 nm, e em concentrações entre 20 até 250 mg /L para análises da Vitamina C. As medidas feitas com LED, mostram concordância com os resultados obtidos pelo espectrofotômetro comercial.

Assim, a construção e aplicação de fotômetros LED é de grande valia e pode ser uma interessante ferramenta para aplicação no ensino em aulas práticas de química e bioquímica.

Esta metodologia pode ser aplicada como uma nova ferramenta de ensino aprendizagem. A metodologia emprega instrumentos de fácil aplicação e manuseio, utiliza metodologias interdisciplinares com emprego de conceitos de Física e Química.

REFERÊNCIAS

1. KOROLKOVAS A., BURCKHALTER, J. H.; Química Farmacêutica, Título do original em inglês: Essentials of Medicinal Chemistry, Editora Guanabara Dois S. A., 783 p, 1982.
2. NELSON, D. L., COX, M. M., Lehninger Principles of Biochemistry, 4. ed. W. H. Freeman, 2005.
3. EUROPEAN PHARMACOPOÉIA. Strasbourg: Council of Europe, 4th ed., p.1030-1031, 2001.
4. ARYA, S.P.; MARAJAN, M.; JAIN, P., Photometric methods for the determination of vitamin C, Analytical Sciences, v. 14, p. 889-895, 1998.

5. WATADA, A.E., A Hight-performance Liquid Chromatographic Method for determining ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables, *HortScience*, v. 17(13), 334-335, 1982.
6. TEE, E.S., YOUNG, S.I., HO, S.K., SITI MIZURA, S., Determination of Vitamin C in Fresh Fruits and Vegetables Using the Dye-titration and Microfluorometric Methods, *Pertanica*, v. 11(1), p. 39-44, 1984.
7. DANIELCZUK, J., ROBERT PIETRZYKOWSKI, R., WOJCIECH ZIELIŃSKI, W., Comparative study of the enzymatic method for determination of vitamin c with routine methods according to iso, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, v. 13/54 (1), p. 41-46, 2004.
8. ELSHOLZ, O.; RODRIGUES, T. C. Von LED-Photometer zum Photosensor. *GIT-Fachzeitschrift für Labor*. Heft 6, 2005.
9. DIAS, R. F.; et al. Construção de equipamentos analíticos e para determinação de matrizes no meio ambiente. In: IX Seminário de Iniciação Científica, Ituiutaba, Minas Gerais, p. 11, 2007.
10. RODRIGUES, T.C., ELSHOLZ, O., *GIT-Fachzeitschrift für Labor*, p. 76- 77, 2009.

AUTORES

Tereza Cristina Rodrigues Elsholz¹, é Pós-doutora em Química Analítica pela Università Degli Studi di Bologna, Itália, Pós doutora em Química Analítica pela Universita delle Iles Balerares, Palma – Mallorca, Espanha e Pós-doutora pela Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg – HAW Hamburg, Hamburgo, Alemanha. É docente do curso de Ciências Biológicas da UEMG/FEIT, campus de Ituiutaba-MG.
cristina.rod.els@googlemail.com

Olaf Elsholz² é Doutor em Química Analítica pela Technische Universität Berlin – TUB, Alemanha. É docente da Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg – HAW Hamburg, Hamburgo, Alemanha.
olaf.elsholz@rzbd.haw-hamburg.de

Maria Cristina Moreira Penna³ é acadêmica do curso de Tecnologia em Gestão Ambiental da UEMG/FEIT, campus de Ituiutaba-MG.
cricapen@gmail.com