

# Determinação de Ácido Ascórbico em Amostras de Mel Utilizando Titulação Iodométrica

Isabella de Avelar Santos<sup>1</sup>, Vanézia Liane da Silva<sup>1</sup>

1. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - Sudeste de Minas Gerais Campus Barbacena.

[vanezia.silva@ifsudestemg.edu.br](mailto:vanezia.silva@ifsudestemg.edu.br)

## 1. Introdução

O mel é um dos alimentos mais antigos ligado à história humana e sempre atraiu a atenção do homem, especialmente pelas características adoçantes. Mas, sua utilização vai além do uso como alimento, também como medicamento, devido às suas propriedades antissépticas, como conservante de frutas e grãos, e até mesmo como oferenda aos deuses (SILVA et al, 2004).

A composição do mel depende, principalmente, das fontes vegetais das quais ele é derivado, mas também do tempo, solo, espécie da abelha, estado fisiológico da colônia, estado de maturação do mel, condições meteorológicas na época da colheita, dentre outros fatores (CRANE, 1983).

A vitamina C foi durante muito tempo conhecida como o nutriente essencial que prevenia o escorbuto (doença causada pela sua deficiência), porém, sua importância cresceu ao longo do tempo, grande parte pela descoberta de seu potencial antioxidante. A vitamina C é conhecida por ascorbato, ácido ascórbico, L-ácido ascórbico, ácido deidroascórbico, vitamina antiescorbútica. Hidrossolúvel, não sintetizado em seres humanos, devendo ser ingerida através da dieta (COZZOLINO, 2009).

A vitamina C tem ação na conversão do colesterol em ácidos biliares e no metabolismo iônico de minerais. O papel do ácido ascórbico como agente redutor biológico pode ser ligado também à redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis. Por ser solúvel em água, acredita-se que a vitamina C faça parte da primeira linha de defesa do organismo, e, por ter facilidade em doar elétrons, possui também função antioxidante. Sua ação pode ser em espécies reativas de oxigênio, nitrogênio, oxigênio siglete e hipoclorito. Os produtos de oxidação do ascorbato não apresentam toxicidade e são facilmente regenerados pelos redutores glutatona e NADP e/ou NADPH (COZZOLINO, 2009).

Os métodos clássicos para a determinação do ácido ascórbico baseiam-se no seu forte poder redutor, tendo como método oficial o que utiliza solução de 2,6-

dicloroindofenol, além de outros métodos, como o que emprega uma solução de iodo para reduzir o ácido ascórbico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

No Brasil, para quantificar vitamina C presente em uma amostra, utiliza-se como método oficial, a titulação iodométrica, método de difícil aplicação para dosar apenas a vitamina C presente naturalmente nos alimentos e em outros tipos de amostras, por apresentar dificuldade na visualização do ponto de viragem, quando se trabalha com amostras coloridas ou quando a amostra contém uma baixa concentração do referido ácido (SILVA, 2012).

Validação do método analítico é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos (NBR ISO/IEC 17025, 2001). A validação do método analítico permite demonstrar que o método é "adequado ao uso" pretendido. A validação inclui a especificação dos requisitos do método; determinação das características do método; verificação de que os requisitos podem ser atendidos com o uso do método e uma declaração sobre a validade do método (NBR ISO/IEC 17025, 2001)

**Palavras chave:** Vitamina C, mel, titulação iodométrica.

**Categoria/Área:** BIC Jr - Ciências Exatas e da Terra.

## **2. Objetivo**

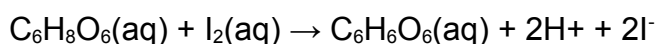
Validar o método de determinação de ácido ascórbico em amostras de mel através da titulação iodométrica.

## **3. Material e métodos**

Trabalhou-se com uma amostra de mel de florada silvestre e com ácido ascórbico. Para a determinação de ácido ascórbico nestas amostras, pelo método da titulação iodométrica, uma massa de aproximada de 2,0 g de amostra de mel foi pesada diretamente em um erlenmeyer de 250 mL e, diluída em 100 mL de água destilada. Em seguida, foi acrescentado 5 mL de iodeto de potássio 4%, 1 mL de ácido clorídrico 2,4 mol/L e 10 gotas de amido 0,5%. Esta solução foi então titulada com uma solução de dicromato de potássio 1,67 mmol/L até o ponto de viragem. Para a realização de testes que exigiam o uso do ácido ascórbico em substituição da amostra de mel diluiu-se o ácido nas concentrações desejadas e realizou-se o mesmo procedimento citado anteriormente. As análises do teste de robustez foram

feitas utilizando-se 6 repetições para cada parâmetro variado, os demais testes foram realizados com 10 repetições. Todos os reagentes utilizados eram de padrão PA-ACS (significa que é um reagente Para Análise (PA), segundo as especificações da American Chemical Society (ACS).

O método de Titulação Iodométrica, em que se utiliza o amido como indicador e o dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) como titulante, ocorre segundo as seguintes reações:



Foram avaliados os parâmetros de: robustez, linearidade, sensibilidade (S), limite de quantificação (LQ), limite de detecção (LD) e precisão (repetitividade e reprodutibilidade) para validação do método de determinação de ácido ascórbico em amostras de mel.

#### 4. Resultados e discussão

##### **Robustez**

O primeiro teste realizado foi o da Robustez, alterando-se, deliberadamente, parâmetros associados ao método, para comprovar sua confiabilidade durante a rotina de trabalho. Variou-se a quantidade de ácido clorídrico utilizado na amostra e a marca do Iodeto de Potássio. De acordo com os dados da Tabela 1 e com o tratamento estatístico (teste t e teste F), pode-se afirmar que o método é robusto, com 95% de confiança, pois não há diferença estatisticamente significativa entre as médias dos parâmetros avaliados. O teste t mede se a média de dois grupos é significativamente diferente, assim calcula-se o t e compara-o com o  $t_{\text{tabelado}}$ . Através do teste F podemos saber se dois desvios-padrão são significativamente diferentes entre si. F é o quociente entre quadrados dos desvios-padrão.

**Tabela 1:** Robustez (variação da quantidade de HCl)

Quantidade de HCl →	0,85 mL	1,00 mL	1,15 mL
Repetições ↓			
1	7	7	6
2	6	7	6
3	6	7	6
4	6	7	6
5	5	6	6
6	7	6	6
<b>Média (ppm de vitamina C)</b>	<b>6,17</b>	<b>6,67</b>	<b>6</b>

### ***Linearidade***

A linearidade é a capacidade de gerar resultados proporcionais de acordo com as concentrações do analito nas amostras. Através do método dos mínimos quadrados obteve-se a seguinte equação da reta:  $y = 0,9947x - 2,6855$ . A análise da regressão linear demonstrou um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) muito próximo da unidade (0,999), o que comprova a linearidade do método.

### ***Sensibilidade, Limite de Detecção e Limite de Quantificação***

A sensibilidade da metodologia, calculada utilizando-se a curva de regressão linear, foi de 0,999 ppm de vitamina C. A média ( $n=10$ ) dos valores do branco (reagentes utilizados na análise sem a adição do analito) foi de 0,029mL de solução de dicromato de potássio, apresentando um desvio padrão de  $\pm 0,0057$ . O LD calculado para o método foi de 0,041 ppm e o LQ de 0,076ppm de vitamina C.

A sensibilidade pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear de calibração e é determinado simultaneamente aos testes de linearidade. Já que sensibilidade é interpretada pela inclinação da curva, quanto mais próximo de 1, melhor, pois isso indica que ela é constante.

O branco é fundamental, pois toda interferência da região analítica, causada pelo meio racional, interferências do ambiente, manipulação, assim como do equipamento analítico, será determinada e, conseqüentemente, descontada, do resultado obtido na análise da espécie.

### ***Precisão (repetitividade e reprodutibilidade)***

Na avaliação da repetitividade encontramos um valor de 0,7%, indicando que o método apresenta uma boa repetitividade, visto que o valor encontrado é inferior a 5%. Na reprodutibilidade encontramos um valor de 0,65%, confirmando que o método pode ser realizado sob condições variadas de medição, permanecendo com um alto grau de concordância entre seus resultados.

## **5. Conclusão**

A metodologia analítica proposta para determinação de ácido ascórbico em amostras de mel, utilizando-se a titulação iodométrica, mostrou-se sensível, específica, precisa, exata, robusta e linear na faixa de trabalho, sendo adequada para determinar a concentração de ácido ascórbico em produtos apícolas.

## **6. Referências bibliográficas**

1. SILVA, C. L.; QUEIRÓZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 8, n. 2/3, p. 260-265, 2004.
2. CRANE, E. O livro do mel. São Paulo: Nobel, 1983.
3. COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de Nutrientes. Barueri, 355-360, 2009.
4. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4 ed. digital. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2008. v.1.
5. SILVA, V. L. Imobilização Enzimática e Eletrodos modificados para Determinação Amperométrica em Fluxo de Glicose, Ácido Ascórbico e Ácido Úrico. Juiz de Fora. 2011
6. NBR ISO/IEC 17025. Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Calibração e de Ensaios. 2001 ABNT. RJ. Brasil

**Apoio financeiro:** Agradecimentos à CNPq pelo apoio financeiro e ao IF Sudeste MG – Campus Barbacena pelo fornecimento da estrutura que permitiu o desenvolvimento da pesquisa.