Departamento de Química Orgânica e Biológica
Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo
Diretor — Prof. Dr. Fonseca Ribeiro

DOSEAMENTO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM VEGETAIS SULFATADOS

POR

O. F. Ribeiro

Preparador de Química Tecnológica Inorgânica
— Química Tecnológica Orgânica da Escola
Politécnica de São Paulo

Sendo o ácido ascórbico extraordinariamente sensível à ação catalítica oxidante do cobre é de se indagar a possível influência desse metal no doseamento de vitamina C em vegetais que são normalmente tratados pelo sulfato de cobre, visto que fica sempre na superfície dos mesmos um depósito maior ou menor do sal. Na operação de doseamento esse depósito de cobre da superfície obrigatoriamente contamina o extrato e poderia assim representar uma causa de erro.

Dentre as frutas que no nosso meio são quasi que sistematicamente «sulfatadas» destacam-se o figo e a uva.

Doseando o cobre nestas duas variedades vegetais encontramos em média: uva 0,4 mgr. e figo 0,9 mgr. para 100,0 gr. de substância, portanto valores que não deveriam ser negligenciados. Agradecemos ao Sr. José Galeano o auxilio que nos prestou nesse doseamento de cobre.

EXPERIMENTAÇÃO

Uma solução titulada de ácido ascórbico é acrescida de 2 mgr. de cobre em cada 100 cm³ e após exatamente 10 minutos de contato tratada por solução de ácido metafosfórico a 3 % na proporção de 1:2, conforme a sequência do doseamento de ácido ascórbico nos vegetais. Após a adição de HPO₃ a mistura permanece por tempos variáveis de 5, 10, 15, 20 e 25 minutos para então se fazer a passagem de uma corrente de H₂S e no dia imediato, depois da eliminação do gás sulfídrico pelo CO₂, procede-se a titulação. Visto que no doseamento em vegetais depois da adição de HPO₃ sempre se necessita esperar alguns minutos (filtração, centrifugação, etc.) até que o extrato receba o H₂S, fizemos em duplicata a prova acima referida usando a solução de HPO₃ na qual se passara anteriormente H₂S.

Os tubos 1, 3, 5, 7 e 9 receberam HPO₃, depois de 10 minutos de contato do cobre com a solução de ácido ascórbico e a corrente de H₂S foi passada em tempos respectivos de 5, 10, 15, 20 e 25 minutos. Idem, para os tubos 2, 4, 6, 8 e 10 que ao invés de HPO₃ receberam,

Tubos	Ácido ascórbico
	%
1	24,4
2	24,3
3	24,3
4	24,2
5	24,7
6	24,9
7	24,5
8	24,3
9	24,3
10	24,4
Testemunho	23,1

nas condições anteriores, o ácido metafosfórico já saturado pelo H_2S e posteriormente, nos mesmos intervalos de tempo também a corrente de gás sulfídrico. Nota-se nestes resultados a igualdade de valores o que demonstra a reversibilidade da possível oxidação do ácido ascórbico pelo cobre, nas condições de tempo da experiência. O valor ligeiramente inferior do testemunho deve ser atribuído a uma pequena quantidade de ácido deidroascórbico já existente na solução do ácido cevítico (autooxidação). Observa-se também que não houve diferença entre os resultados dos tubos que receberam HPO_3 e os que receberam a solução desse ácido já saturada pelo H_2S .

Em outra prova procuramos indagar a influência do tempo entre a adição de cobre e a acidificação pelo ácido metafosfórico não estendendo esse tempo além de 50 minutos por não ser necessário nos processos de doseamento de ácido ascórbico em extratos vegetais.

QUADRO N.º 1

Efeito inibidor do HPO_3 na oxidação catalítica do ácido ascórbico pelo cobre

Tubos	Tempo	Ácido ascórbico — mgr. % antes do H_2S		Ácido ascórbico — mgr. % após H_2S
		Acidificação em tempo zero	Acidif. no momento de reduzir pelo H_2S	
T	—	—	—	9,87
T ¹	0 min	9,83	—	9,86
1	10 »	9,81	—	9,86
2	10 »	—	7,66	9,91
3	20 »	9,74	—	9,90
4	20 »	—	7,02	9,85
5	30 »	9,76	—	9,89
6	30 »	—	6,03	9,83
7	40 »	9,76	—	9,90
8	40 »	—	5,76	9,84
9	50 »	9,75	—	9,88
10	50 »	—	5,31	9,84

Observa-se claramente que após a acidificação pelo HPO_3 o cobre não faz sentir sua ação catalítica (*) ou o faz apenas em proporções mínimas (0,8 %) enquanto que na ausência do ácido a oxidação atingiu a 45,9 % no espaço de 50 minutos, embora fosse integralmente reversível.

Outro detalhe que se poderia considerar era o da variação da quantidade de cobre e também aqui, no espaço de 50 minutos a partir do momento em que se juntou o cobre, a transformação de ácido ascórbico em deidro foi reversível pelo H_2S .

Os resultados seguintes expressam a média dos resultados:

Tubos	Cobre mgr. em 100 cm. ³ de solução	Ácido ascórbico Recuperado mgr. %
1	—	6,44
2	0,5	6,45
3	1,0	6,38
4	1,5	6,41
5	2,0	6,34

O conjunto dos resultados indica claramente que a ação oxidante do cobre não interfere no doseamento do ácido ascórbico ao menos quando se faz, dentro de 50 minutos, a redução pelo H_2S .

Em uma série de exames em uvas nacionais utilizamo-nos do processo de TAUBER e KLEIKER (3) modificado por LESER (4):

- 1) obtenção de 10 cm³ de caldo de uva por expressão e filtração;
- 2) adição de 20cm³ de ácido metafosfórico a 3 %;
- 3) adaptação de pH $\pm$ 6, em 10cm³ da mistura por meio de 1cm³ de solução N/2 de CO_3Na_2 ;
- 4) passagem da corrente de H_2S por 5 minutos e conservação do recipiente fechado e na obscuridade por 12 horas;
- 5) eliminação do H_2S por meio de CO_2 até ausência de reação com o papel de acetato de chumbo;
- 6) doseamento pelo 2-6, diclorofenolindofenol. (Resultado A);
- 7) destruição do ácido ascórbico pela ascorbinase (preparada segundo FUGITA e SAKAMOTO (5). (Resultado B).

NOTA: O ácido ascórbico real é calculado da diferença de A e B.

(*) Já em 1936 MUSULIN e KING (1) demonstraram que se trata de um efeito específico do HPO_3 e não de uma simples questão de pH e posteriormente LYMAN, SCHULTZE e KING (2) adicionam novos detalhes a respeito.

QUADRO N.º 2

Teor em ácido ascórbico de uvas nacionais

	UVA BRANCA			UVA PRETA		
	1	2	3	4	5	6
	Após CO ₂ mgr. %	Resto mgr. %	Real mgr. %	Após CO ₂ mgr. %	Resto mgr. %	Real mgr. %
1	8,74	0,87	7,87	6,65	0,70	5,95
2	8,05	0,87	7,18	8,22	0,87	7,35
3	6,47	0,00	6,47	5,95	0,70	5,25
4	7,87	0,00	7,87	9,44	0,80	8,57
5	6,62	0,00	6,62	5,25	0,52	4,73
6	8,51	0,52	7,99	5,25	0,87	4,28
7	7,57	0,87	6,70	5,07	0,70	4,37
8	7,65	0,00	7,65	4,90	0,52	4,38
9	7,69	1,75	6,94	5,42	0,70	4,72
10	9,47	0,87	8,60	4,37	0,52	3,85
11	7,87	1,40	6,47	6,65	1,40	5,25
12	6,82	0,87	5,95	6,82	1,75	5,07
13	5,60	1,40	4,20	4,65	1,40	3,25
14	7,87	1,40	6,47	4,37	0,87	3,50
15	6,82	0,87	5,95	5,42	1,92	3,50
16	6,82	1,40	5,42	5,60	0,37	4,73
17	9,47	1,75	7,72	9,10	0,87	8,23
18	8,39	1,40	6,99	5,25	1,10	4,15
19	8,39	1,40	6,99	7,22	1,40	5,82
20	8,05	1,40	6,65	5,07	1,40	3,67
21	5,42	1,40	4,02	4,20	0,70	3,50
22	4,55	0,70	3,85	3,50	0,35	3,15
23	4,37	0,70	3,67	3,50	0,17	3,33
24	6,12	0,87	5,25	4,20	0,37	3,33
25	5,42	1,40	4,02	4,20	0,70	3,50
26	6,82	1,40	5,42	4,39	0,87	3,52
27	5,78	1,75	5,03	3,90	1,40	2,50
28	6,30	0,70	5,60	4,55	0,70	3,75
29	7,12	0,87	6,25	4,20	0,87	3,33
30	7,00	0,70	6,30	4,55	0,87	3,68
	M = 7,12 $\sigma = 1,29$ V = 18,1 %	M = 0,98 $\sigma = 0,52$ V = 53,1 %	M = 6,20 $\sigma = 1,28$ V = 20,6 %	M = 5,40 $\sigma = 1,55$ V = 28,7 %	M = 0,92 $\sigma = 0,39$ V = 42,4 %	M = 4,47 $\sigma = 1,45$ V = 32,4 %

Da análise estatística que segue ver-se-á que as diferenças existentes entre as duas variedades de uva independem do acaso, já o mesmo não acontecendo com as substâncias interferentes não ácido-ascórbico (colunas 2 e 5).

$$\begin{array}{l} \text{Dif. entre 1 e 4} = 1,72 \\ \sigma_d = 0,37 \end{array} \quad \left| \quad \frac{d}{\sigma_d} = \frac{1,72}{0,37} = 4,6 \right.$$

$$\begin{array}{l} \text{Dif. entre 2 e 5} = 0,06 \\ \sigma_d = 0,38 \end{array} \quad \left| \quad \frac{d}{\sigma_d} = \frac{0,06}{0,38} = 0,2 \right.$$

$$\begin{array}{l} \text{Dif. entre 3 e 6} = 1,73 \\ \sigma_d = 0,35 \end{array} \quad \left| \quad \frac{d}{\sigma_d} = \frac{1,73}{0,35} = 4,9 \right.$$

RESUMO

O autor demonstra que a existência de sais de cobre na superfície de vegetais que sofreram «sulfatação» não representa causa de erro no doseamento de ácido ascórbico pelo método de TAUBER e KLEINER modificado por LESER; as provas em amostras de uvas nacionais deram em média os seguintes resultados: uva branca 6,20 %; uva preta 4,47 % (mgr. de ácido ascórbico por 100 cm³ do caldo da fruta).

BIBLIOGRAFIA

- 1) MUSULIN, R. R. — KING, G. G. — 1936 — *Jour. Biol. Chem.*, **116**:409.
- 2) LYMAN, C. M. — SCHULTZE, M. O. — KING, G. G. — 1937 — *Jour. Biol. Chem.*, **118**:757.
- 3) TAUBER, H. — KLEINER, I. — 1935 — *Jour. Biol. Chem.*, **110**:559.
- 4) LESER, W. P. — Informação Pessoal.
- 5) FUGITA A. — SAKAMOTO, T. — 1938 — *Biochem. Z.*, **297**:10.