

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM BEBIDAS DE ABACAXI (*Ananas comosus*)
e BETERRABA (*Beta vulgaris*) POR TITRIMETRIA E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

DETERMINATION OF ASCORBIC ACID IN PINEAPPLE (*Ananas comosus*) AND BEET
(*Beta vulgaris*) DRINKS BY TITRIMETRY AND LIQUID CHROMATOGRAPHY

Alexandre PORTE¹, Flávia Gama Corrêa LUTTERBACH², Luciana Helena Maia PORTE³,
Ronoel Luiz de Oliveira GODOY⁴, Marisa Helena CARDOSO⁵, Manuela Cristina Pessanha
de Araújo SANTIAGO⁶

¹ D. Sc., Professor Adjunto – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

² Graduanda em Nutrição - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

³ D. Sc., Professora Adjunto – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ

⁴ D. Sc., Pesquisador Embrapa Agroindústria de Alimentos

⁵ D. Sc., Professora Associada - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

⁶ M. Sc., Analista Embrapa Agroindústria de Alimentos

Palavras-chave: vitamina C, HPLC, CLAE, frutas tropicais, pasteurização

Introdução

As bebidas são alimentos de fácil consumo para as crianças. São de rápida ingestão, reidratam e podem servir como via para o fornecimento de diversos nutrientes. Elas podem ser alternativas para a introdução destes alimentos na dieta de crianças, que normalmente não querem ingeri-los isoladamente na sua forma *in natura* ou cozidos.

Como nem sempre as bebidas são consumidas imediatamente após o seu preparo, o tratamento térmico de pasteurização, que objetiva eliminar os microrganismos patogênicos não esporulados torna-se muito importante (ORDOÑEZ, 2005).

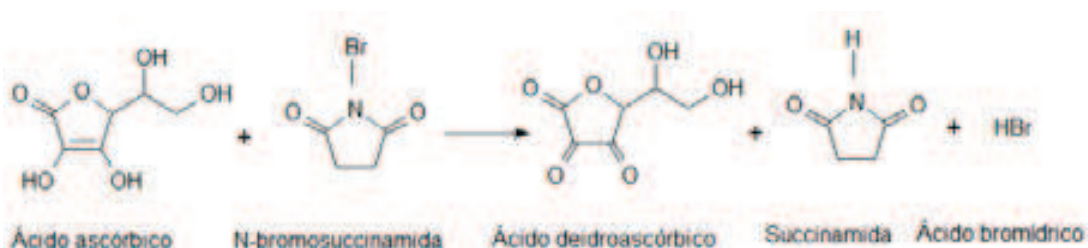
Os binômios tempo/temperatura empregados nos processamentos térmicos, detalhes do tipo de processo, os volumes das bebidas e as modificações nas características físicas, químicas e físico-químicas decorrentes da pasteurização têm variado bastante (AMARO et al., 2002). Tudo isto pode afetar a aceitação do produto em decorrência de mudanças sensoriais e provocar a perda de certos nutrientes, como o ácido ascórbico diminuindo portanto, o valor nutricional.

A dosagem de ácido ascórbico em alimentos pode ser realizada por métodos colorimétricos, titrimétricos (titulométricos) e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC, de High Performance Liquid Chromatography). Todos apresentam vantagens e limitações.

Entre os métodos titrimétricos, o uso de DFI (2,6-diclorofenolindofenol) é bastante empregado, embora seja conhecida a muito tempo sua limitação devido a interferência certas classes de substâncias, como reductonas e ácidos redúcticos (BARAKAT et al, 1955). Já no método que usa *N*-bromosuccinamida (NBS) o ácido ascórbico é seletivamente oxidado por este reagente antes de outras substâncias reductoras (BARAKAT et al, 1955).



O Esquema 1 apresenta a reação entre ácido ascórbico e o NBS.



Estudos específicos para cada tipo de alimento fornecem informações mais fidedignas acerca de cada produto, por isso o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do aquecimento sobre o teor de ácido ascórbico de bebida de abacaxi e beterraba destinada a crianças de 1 a 4 anos de idade empregando 2 métodos diferentes, um titrimétrico e outro por CLAE.

Material e Métodos

Para a elaboração das bebidas, os vegetais adquiridos do comércio local foram higienizados e sanitizados em solução de hipoclorito de sódio a 100 ppm durante 30 minutos. Abacaxi (300g = 70%), beterraba (42,83g = 10%), água (81,43g = 19%) e sacarose (4,29g = 1%) foram desintegrados em liquidificador, filtrados, diluídos com água (proporção 1:1) aquecidos em recipiente de polietileno tereftalato durante 20 minutos a 100 °C (banho-maria), resfriados em banho de gelo até 25 °C e armazenados a -18 °C (*freezer*) até a realização das análises.

A análise de ácido ascórbico por titrimetria foi adaptada de Barakat et al. (1955). Para a titulação da bebida foram pesados 10 g de amostra em erlenmeyer, adicionados 20 mL de solução de ácido acético a 3%, 4 mL de solução de iodeto de potássio a 4% e 1 mL de solução de amido 1% e titulados contra uma solução de NBS 0,1% usando bureta de 10 mL até modificação da coloração vermelha para violeta. Para a titulação da solução padrão de ácido ascórbico foram transferidos com auxílio de pipeta volumétrica, 5 mL da solução padrão de ácido ascórbico 0,1% em ácido acético a 3% para erlenmeyer, adicionados 10 mL de solução de ácido acético a 3%, 4 mL de solução de iodeto de potássio a 4% e 1 mL de solução de amido 1% e titulados contra uma solução de NBS 0,1% usando bureta de 10 mL até modificação da coloração incolor para azul escuro.

A análise de ácido ascórbico por cromatografia líquida foi realizada segundo Rosa et al. (2007). Foram pesados 2,5g de amostra em balão volumétrico de 25 ml, adicionados 10 ml de ácido sulfúrico 0,1N, extraído em banho ultrassom por 10 minutos, avolumado com ácido sulfúrico 0,1N e filtrado a solução diretamente para o vial do injetor automático. As condições cromatográficas foram: coluna HPX 87 H BIO RAD (7,8 cm x 300 mm) a temperatura ambiente. Fase móvel de ácido sulfúrico 0,1N com fluxo de 0,7 ml/minuto. Detector de UV a 243,8 nm. Tempo de corrida de 10 minutos. Volume de injeção de 20 µl com injetor a 5 °C. Equipamento Waters Alliance® modelo 2695.

A comparação dos teores de ácido ascórbico das bebidas *in natura* e aquecidas analisadas pelos 2 métodos foi feita por Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com 4 tratamentos (método titrimétrico, método cromatográfico, bebida *in natura* e bebida pasteurizada) e três repetições em cada tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativo, foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para comparação entre as médias, utilizando o programa estatístico ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA e AZEVEDO, 2002).

Resultados e Discussão

Após a filtração o rendimento da bebida *in natura* foi de 72%. As concentrações de água, abacaxi, beterraba e sacarose das bebidas prontas para o consumo foram: 59,50%, 35,00%, 5,00% e 0,50%, respectivamente.

Os teores dos nutrientes analisados nas bebidas *in natura* e aquecida pelos 2 métodos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teores ácido ascórbico ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) das bebidas com e sem aquecimento determinados pelo método titrimétrico e por cromatografia líquida

BEBIDA	TITRIMETRIA		CLAE	
	<i>in natura</i>	aquecida	<i>in natura</i>	Aquecida
	10,557 \pm 0,250a	8,388 \pm 0,501b	4,400 \pm 0,088c	2,490 \pm 0,020d

Médias na mesma linha com letras diferentes, diferem entre si significativamente pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

Os teores de ácido ascórbico encontrados por CLAE foram significativamente menores do que aqueles encontrados por titrimetria, tanto na bebida *in natura* quanto na bebida aquecida (Tabela 1). Na bebida aquecida, o teor encontrado de ácido ascórbico por CLAE foi 29,68% menor ao valor encontrado por titrimetria, enquanto na bebida *in natura* esta diferença foi 41,68% menor. Isto significa que, mesmo com valores relativamente baixos desvio padrão observado nas titulações (0,250 na bebida *in natura* e 0,501 na bebida aquecida), o método titrimétrico pode superestimar mais que o dobro do valor encontrado na análise por CLAE, representando uma grande desvantagem.

A determinação do teor de ácido ascórbico em frutas por titrimetria direta com DFI a 0,01 ou 0,02% é bastante usada e tem gerado valores com grandes variações, como no caso de uma fruta amazônica conhecida pro bacuri (*Platonia insignis* Mart), em que podem ser encontrados teores de ácido ascórbico de 0,2 $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ até 15,07 $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ (CANUTO et al., 2010; SILVA et al., 2010). Estes resultados, mesmo considerando as variações naturais que se espera encontrar do teor de ácido ascórbico em vegetais em função do clima, solo, umidade, etc., levam a incerteza na confiabilidade do valor real do teor de ácido ascórbico obtido através das análises titrimétricas.

O aquecimento provocou perdas significativas no teor de ácido ascórbico da bebida aquecida se comparada com a bebida *in natura*, o que foi detectado por ambos os métodos, entretanto, enquanto na avaliação pelo método titrimétrico esta perda foi de 20,55%, na avaliação realizada por CLAE, esta perda foi de 43,41%, ou seja, o método titrimétrico não apenas superestimou o teor de ácido ascórbico nas bebidas, como também subestimou as perdas sofridas com o aquecimento.

Embora tenha sido bastante acentuada a perda de ácido ascórbico na bebida aquecida, ambas as bebidas podem ser classificadas como fonte deste micronutriente para crianças de 7 meses até 6 anos de idade através da análise por CLAE. A bebida *in natura* fornece 14,67% da ingestão diária recomendada (IDR) em cada 100 g de suco, enquanto a bebida aquecida oferece 8,30% da IDR (30 mg/dia). Se forem considerados os resultados da análise titrimétrica, as bebidas aquecida e *in natura* seriam consideradas como rica, neste nutriente, ao apresentarem 27,96% e 35,19% da ingestão diária recomendada (BRASIL, 1998; BRASIL, 2005).



Conclusão

O tratamento térmico aplicado reduziu significativamente o teor de ácido ascórbico. A análise titrimétrica superestimou os teores de ácido ascórbico encontrados nas bebidas e subestimou as perdas sofridas da vitamina provocadas aquecimento, se comparado ao método de CLAE. Portanto, recomenda-se que a metodologia usada para dosar ácido ascórbico seja através de CLAE.

Referências Bibliográficas

AMARO, A. P.; BONILHA, P. R. M.; MONTEIRO, M. Efeito do tratamento térmico nas características físico-químicas e microbiológicas da polpa de maracujá. **Alimentos e Nutrição**, v. 13, p. 151-162, 2002.

BARAKAT, M.Z.; FATHY, M.; EL-WAHAB, A.; EL-SADR, M.M. Action of *N*-bromosuccinamide on ascorbic acid: new titrimetric method for estimation of vitamin C. **Analytical Chemistry**, v. 27, n. 4, p. 536-540, 1955.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 27 de 13 de janeiro de 1998**. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br>

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 269 de 2 de setembro de 2005**. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br>

CANUTO, G.A.B.; XAVIER, A.A.O.; NEVES, L.C.; BENASSI, M.T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

ORDOÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**. v. 1, Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 109.

ROSA, J.S.; GODOY, R.L.O.; OIANO NETO, J.; CAMPOS, R.S.; MATTA, V.M.; FREIRE, C.A. SILVA, A.S.; SOUZA, R.S. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 837-846, 2007.

SILVA, F.A.S.E.; AZEVEDO, C.A.V. Assstat computational program version for the windows operating system. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, p. 71-78, 2002.

SILVA, V.K.L.; FIGUEIREDO, R.W.; BRITO, E.S.; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.; FIGUEIREDO, E.A.T. Estabilidade da polpa do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) congelada por 12 meses. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 5, p. 1293-1300, 2010.

Agradecimento

À UNIRIO pelo fornecimento da bolsa de iniciação científica à Flavia Gama Corrêa Lutterbach.

Autor a ser contactado: Alexandre Porte. Professor Adjunto do Departamento de Tecnologia de Alimentos, Escola de Nutrição, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO. Rua Dr. Xavier Sigaud, 290, Urca, Cep. 22290-180, Rio de Janeiro – RJ, Brasil. e-mail: alexandre_porte@yahoo.com.br