



AULA PRÁTICA Nº - 01  
25 / Fevereiro / 2016  
Profª Solange Brazaca

## DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C

### FUNDAMENTO:

O teor de ácido Ascórbico pode ser determinado pelo método de Tillmans que é um método titulométrico. Este método baseia-se na redução do indicador 2,6 Diclorofenol Indofenol (DCFI) pelo ácido Ascórbico.

O DCFI em meio básico ou neutro é azul, em meio ácido é rosa, e sua forma reduzida é incolor.

O ponto final da titulação é detectado pela viragem da solução de incolor para rosa, quando a primeira gota de solução de DCFI é introduzida no sistema, com todo o ácido ascórbico já consumido.

Os resultados são expressos em mg de ácido Ascórbico por 100mL de amostra.

### ESCOPO:

Este método é usado para amostras com baixo teor de vitamina C, por exemplo, sucos de frutas. Baseia-se na redução do corante sal sódico de 2,6 Diclorofenol Indofenol por uma solução ácida de vitamina C.

### EQUIPAMENTOS UTILIZADOS:

- ◆ Agitador Magnético
- ◆ Balança Analítica

### MATERIAS DE LABORATÓRIO UTILIZADOS

- ◆ Balão Volumétrico de 50 e 200 mL
- ◆ Bureta de 25 mL
- ◆ Béquer de 200 mL



- ◆ Erlenmeyer de 125 mL
- ◆ Espátula
- ◆ Funil
- ◆ Papel Alumínio
- ◆ Papel de Filtro
- ◆ Pipetas de 5 e 10 mL

### REAGENTES UTILIZADOS:

- ◆ Ácido Ascórbico -  $C_6H_8O_6$
- ◆ Ácido Oxálico -  $C_2H_2O_4$
- ◆ Celite 545
- ◆ 2,6 Diclorofenol Indofenol -  $C_{12}H_6Cl_2NNaO_2 \cdot XH_2O$

### PROCEDIMENTO:

#### PREPARO DA AMOSTA:

- ◆ Transferir, com o auxílio de uma pipetar, 5,0 mL da amostra para balão volumétrico de 50 mL e;
- ◆ Completar o volume do balão com uma solução de ácido Oxálico 2%;
- ◆ Homogeneizar bem;
- ◆ Adicionar uma "ponta" de espátula de Celite 545 (com a finalidade de diminuir cor e turbidez) em papel de filtro;
- ◆ Filtrar neste papel filtro o conteúdo do balão, recolhendo o filtrado em um Becker de 200 mL de capacidade;
- ◆ Após filtrar, com o auxílio de uma proveta, lavar o papel de filtro com 10 mL da solução de ácido Oxálico 2%;
- ◆ Tampar o Becker com papel alumínio e manter em escuro por 15 minutos.



### TITULAÇÃO DA AMOSTRA:

- ◆ Transferir, com o auxílio de uma pipeta, 10 mL do extrato da amostra obtida para Erlenmeyer de 125 mL;
- ◆ Completar o volume da bureta com a solução de 2,6 Diclofenol Indofenol a 0,02%;
- ◆ Colocar o Erlenmeyer com a amostra sobre o agitador magnético e colocar um ímã dentro deste;
- ◆ Agitar vagarosamente;
- ◆ Titular com a solução de 2,6 Diclofenol Indofenol a 0,02%; contido na bureta, até viragem para coloração rósea clara;
- ◆ Anotar o volume gasto na bureta.

### TITULAÇÃO DA SOLUÇÃO PADRÃO:

- ◆ Transferir, com o auxílio de uma pipeta, 10 mL da solução padrão de ácido Ascórbico para Erlenmeyer de 125 mL;
- ◆ Completar o volume da bureta com a solução de 2,6 Diclofenol Indofenol a 0,02%;
- ◆ Colocar o Erlenmeyer com a amostra sobre o agitador magnético e colocar um ímã dentro deste;
- ◆ Agitar vagarosamente;
- ◆ Titular com a solução de 2,6 Diclofenol Indofenol a 0,02%; contido na bureta, até viragem para coloração rósea clara;
- ◆ Anotar o volume gasto na bureta.

### CÁLCULOS:

#### SOLUÇÃO PADRÃO:

10 mg ácido Ascórbico ————— 50 mL ácido Oxálico  
X mg ácido Ascórbico ————— 10 mL ácido Oxálico

X= 2 mg de ácido Ascórbico



2 mg ácido Ascórbico ————— x mL Titulação padrão  
Y mg ácido Ascórbico ————— x' mL Titulação da amostra

$$Y = \text{mg ácido Ascórbico} / 10 \text{ mL solução}$$

10 mL de amostra + ácido Oxálico ————— Y mg de ácido Ascórbico  
50 mL total ————— W mg de ácido Ascórbico

$$W = \text{mg de ácido Ascórbico} / 50 \text{ mL suco}$$

Como os resultados devem ser expressos em mg de AA por 100mL de suco:

#### **% ÁCIDO ASCÓRBICO:**

10mL suco ————— W mg de ácido Ascórbico  
100 mL suco ————— Z mg de ácido Ascórbico

$$Z = \text{mg de ácido Ascórbico} / 100 \text{ mL suco}$$

#### **RESÍDUOS:**

O resíduo desta análise deverá ser estocado em bombona apropriada e identificada de acordo com a Norma do Programa PGRQ - NR 003 e armazenada no entreposto do LAN para posterior encaminhamento para tratamento de acordo com a Norma do Programa PGRQ - NR 004.

CÓDIGO DE IDENTIFICAÇÃO DO RESÍDUO: R 100 - Resíduo contendo diclorofenolindofenol.



## **BIBLIOGRAFIA:**

BENASSI, M.T.; ANTUNES, A.J.; A comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extracts solutions for the determination of vitamin C in vegetables. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v.31, p.507-513, 1988

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA. **Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres** Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/BEV/Nao%20Alc/NAO%20ALCOOLICOS%20-%2022%20ACIDO%20ASCORBICO.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/Metodos%20IQA/BEV/Nao%20Alc/NAO%20ALCOOLICOS%20-%2022%20ACIDO%20ASCORBICO.pdf). Acesso em: 22 fev. 2016.



## PREPARO DAS SOLUÇÕES PARA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCORBICO

### SOLUÇÃO DE ÁCIDO OXÁLICO 2%

Composição Química:

- ◆ Ácido Oxálico -  $C_2H_2O_4$  - CAS [144-62-7]
- ◆ Água Destilada
  
- ◆ Pesar, em balança analítica, 4g de ácido Oxálico p.a.;
- ◆ Transferir, quantitativamente para balão volumétrico de 200 mL de capacidade;
- ◆ Adicionar cerca de 50 mL de água destilada;
- ◆ Solubilizar bem;
- ◆ Completar o volume do balão à marca de aferição com água destilada;
- ◆ Homogeneizar bem;
- ◆ Armazenar esta solução em frasco âmbar e em geladeira.

### SOLUÇÃO PADRÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Composição química;

- ◆ Ácido Ascórbico -  $C_6H_8O_6$  - CAS [50-81-7]
- ◆ Água Destilada
  
- ◆ Pesar em balança analítica, 10 mg (0,01 g) de ácido Ascórbico;
- ◆ Transferir quantitativamente o ácido para balão volumétrico de 50 mL e;
- ◆ Adicionar cerca de 20 mL da solução de ácido Oxálico 2%;
- ◆ Solubilizar bem todo o ácido Ascórbico;
- ◆ Completar o volume do balão à marca de aferição com a **solução de ácido Oxálico 2%**;



- ◆ Homogeneizar bem;
- ◆ Armazenar esta solução em frasco âmbar.

**Observação Importante:**

- Esta solução deverá ser preparada momentos antes do uso.

**SOLUÇÃO DE 2,6 DICLOROFENOL INDOFENOL 0,02%  
REAGENTE DE TILLMANS**

Composição química:

- ◆ 2,6 Diclorofenol Indofenol -  $C_{12}H_6Cl_2NNaO_2 \cdot 2H_2O$  - CAS [620-45-1]
- ◆ Água Destilada
  
- ◆ Pesar em balança analítica, 0,04 g de 2,6 Diclorofenol Indofenol;
- ◆ Transferir quantitativamente para um Becker de 200 mL de capacidade;
- ◆ Adicionar cerca de 100 mL de água destilada e levar o Becker em banho-maria morno para melhor solubilização do reagente;
- ◆ Solubilizar bem todo o 2,6 Diclorofenol Indofenol;
- ◆ Transferir, quantitativamente a solução do becker para um balão volumétrico de 200 mL de capacidade, lavando o becker com pequena porção de água destilada;
- ◆ Completar o volume do balão à marco de aferição com água destilada;
- ◆ Homogeneizar bem;
- ◆ Armazenar esta solução em frasco âmbar.

**Observação Importante:**

- Armazene a solução de Tillmans em frasco escuro e na geladeira. Toda vez que usar, padronize com solução recém-preparada de vitamina C.



**TABELA DE RESULTADOS:**

**MATERIAL ANALISADO: Frutas**

<b>N° Grupo</b>	<b>Fruta</b>	<b>Volume do Reagente Tillmans Titulação do Padrão (mL)</b>	<b>Volume do Reagente Tillmans Titulação da Amostra (mL)</b>