

DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

1- Princípio do Método:

O reagente Folin-Ciocalteu é formado por uma mistura de ácidos de tungstênio e de molibdênio. Na presença de compostos fenólicos esses ácidos são reduzidos a óxidos, os quais apresentam coloração azul, com absorvância máxima no comprimento de onda de 765 nm, o que permite a determinação da concentração dos agentes redutores (compostos fenólicos).

2- Materiais:

Pipetas volumétricas até 10mL
Balão volumétrico de 100mL
Tubos de ensaio

Banho-maria a 50°C
Espectrofotômetro

3- Procedimento:

- Cachaças envelhecidas em Amburana (AB), Cabreúva e (CB) Castanheira (CT).
- Em um tubo de ensaio, transferir com pipeta volumétrica 2ml* de cachaça envelhecida;
- Adicionar 1,0mL do Reagente de Folin-Ciocalteu. Homogeneizar;
- Adicionar 8,0mL da solução de carbonato de sódio. Homogeneizar;
- Levar novamente os tubos a banho-maria a 50°C por mais 5 minutos;
- Resfriar em água corrente à temperatura ambiente;
- Homogeneizar bem;
- Ler a Absorvância (A) ou a Transmitância (T) em $\lambda = 765 \text{ nm}$
- Fazer paralelamente uma prova em branco para calibrar o Espectrofotômetro (T = 100%), que é preparado como descrito acima, exceto em relação à adição da amostra, que é substituída por 2 mL de água destilada.

* As amostras de cachaça envelhecida podem necessitar de diluição antes de serem transferidas para o tubo de ensaio, para que as leituras espectrofotométricas se encaixem no intervalo da curva analítica. Por exemplo:

Amendoim, Jequitibá e Araruva – Sem diluição

Pereira – Diluição de 1:5

Carvalho, Grápia – Diluição de 1:10

Amburana, Cabreúva e Castanheira – Diluição 1:20

CURVA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

1- Princípio do Método:

Através de uma série de diluições de uma solução padrão de concentração conhecida é possível estabelecer uma curva de calibração para métodos colorimétricos, que relacione a concentração da substância em questão com valores de transmitância.

2- Soluções de Uso:

- Solução padrão de ácido gálico (500mg/100mL) e solução de trabalho de ácido gálico (50mg/100mL)
- Solução de carbonato de sódio
- Reagente de Folin-Ciocalteu

3- Obtenção da Curva analítica

A partir da solução de trabalho de ácido gálico contendo 50mg/100mL, realizar as diluições com conjuntos de pipetas e balões volumétricos adequados.

Tabela I – Construção da Curva analítica

Solução Número	mL da Solução de trabalho (50mg/100 mL)	mL H ₂ O destilada até	Concentração da solução no balão (mg/100mL)
0	0	100 mL	0
1	2	100 mL	1
2	4	100 mL	2
3	6	100 mL	3
4	8	100 mL	4
5	10	100 mL	5

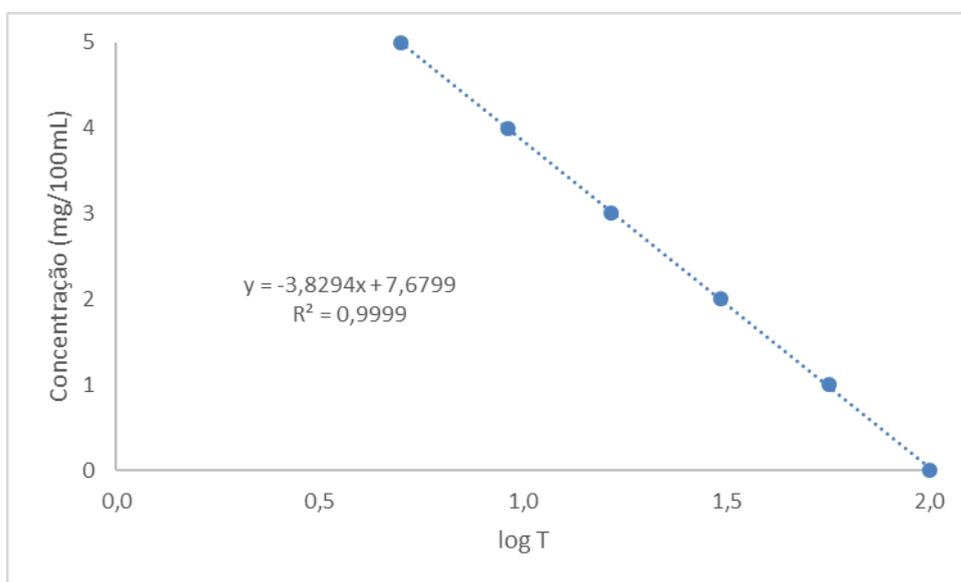
4- Procedimento:

- Em um tubo de ensaio, transferir com pipeta volumétrica 2ml de cada solução obtida na Tabela I (soluções de 0 a 5);
- Adicionar 1,0mL do Reagente de Folin-Ciocalteu. Homogeneizar;
- Adicionar 8,0mL da solução de carbonato de sódio. Homogeneizar;
- Levar novamente os tubos a banho-maria a 50°C por mais 5 minutos;
- Resfriar em água corrente à temperatura ambiente;
- Homogeneizar bem;
- Ler a Absorbância (A) ou a Transmitância (T) em $\lambda = 765 \text{ nm}$

5- Construção da Curva analítica:

Construir um gráfico com os valores de Concentração x logT ou Concentração x A.

C (mg/100mL)	T	T média	log T	C (mg/100mL)
0	100,0	100,0	2,000	0
1	55,7	57,3	1,752	1
2	30,1	31,0	1,485	2
3	16,2	16,7	1,216	3
4	9,2	9,2	0,964	4
5	5,0	5,0	0,699	5



Os valores das transmitâncias são convertidos em concentração de compostos fenólicos totais, através da equação obtida pela curva analítica:

$$C \text{ (mg/100mL)} = -3,8294 \cdot \log T + 7,6799$$

Lembrar de multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição da amostra (no caso, fator = 20).

Amostras	T	T média	log T	Diluído C (mg/100mL)	Amostra C (mg/100mL)	
AB	24,3	27,1	25,7	1,41	2,28	45,61
AB	22,0	25,1	23,6	1,37	2,43	48,52
CB	48,2	53,7	51,0	1,71	1,14	22,85
CB	54,5	53,0	53,8	1,73	1,05	21,07
CT	85,9	87,1	86,5	1,94	0,26	5,25
CT	90,8	89,6	90,2	1,96	0,19	3,85

PREPARO DAS SOLUÇÕES PARA DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Solução padrão de ácido gálico (500mg/100mL):

- Dissolver 0,553g de ácido gálico monohidratado em 5mL de etanol 95% + 50mL de água destilada. Transferir para balão de 100mL e completar com água destilada.

Solução de trabalho de ácido gálico (50mg/100mL):

- Transferir 10 mL da solução estoque de ácido gálico para balão de 100 mL. Completar com água destilada.

Solução de Carbonato de Sódio

- Dissolver 37,5g de carbonato de sódio anidro em 400 mL de H₂O fervente
- Deixar esfriar em temperatura ambiente
- Ajuste o volume para 500 mL em balão volumétrico.