

DETERMINAÇÃO POLAROGRAFICA DO ÁCIDO L-ASCÓRBICO EM PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO CONTENDO POLISSORBATO 60 OU 80 *

Odair ZENEBO **
Myrna SABINO **
Maria J. CORRÊA **

RIALA6/583

ZENEBO, O.; SABINO, M. & CORRÊA, M.J. — Determinação polarográfica do ácido L-ascórbico em produtos de panificação contendo polissorbato 60 ou 80. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(2):133-140, 1984.

RESUMO: Os autores estabeleceram método polarográfico para determinar ácido L-ascórbico na presença de polissorbato 60 ou 80 em produtos de panificação, devido à imprecisão na sua determinação pelos métodos usuais. A oxidação anódica do ácido ascórbico foi realizada em presença da solução-tampão de acetato, pH 4,6. Pelo método proposto foram estudadas interferências de alguns aditivos permitidos nas formulações para panificação e também da substância oxidante, o bromato de potássio.

DESCRITORES: ácido L-ascórbico, determinação em produtos de panificação contendo polissorbato 60 ou 80; pão, produtos, determinação do ácido L-ascórbico por polarografia.

INTRODUÇÃO

O ácido L-ascórbico é usado na indústria de panificação como melhorador de farinhas. Esta substância, utilizada como agente de maturação, cujo uso é permitido pela legislação brasileira⁴, é empregada com a intenção de facilitar melhor manipulação de massas panificáveis, e conceder-lhes maior elasticidade, boa textura e maior volume.

O ácido L-ascórbico age como reforçador do glúten, a principal fração protéica da farinha de trigo, proporcionando massa mais estável para a retenção dos gases liberados durante a fase de fermentação no processamento do pão. Para explicação do fenômeno, admite-se o mecanismo onde, em uma primeira etapa, o ácido ascórbico é oxidado por intervenção da enzima ácido ascórbico oxidase, produzindo ácido deidroascórbico. Este último produto irá oxidar, por ação da enzima ácido deidroascórbico redutase, grupos sulfidrílicos (-SH) da cadeia protéica do

glúten, formando intermolecularmente ligações cruzadas de dissulfetos (-S-S-), proporcionando estrutura mais compacta e ocasionando maior retenção de gases liberados durante a fermentação¹.

Os mais diversos métodos para determinação de ácido ascórbico baseiam-se em seu poder redutor, devido à existência do grupo enediol em sua molécula. Rotineiramente, o método usado é o volumétrico que se fundamenta na redução do iodo liberado durante a oxidação de íons iodeto em meio ácido pela solução de iodato utilizada como reagente titulante¹⁰. Para determinações de pequenas quantidades de ácido ascórbico, utiliza-se o método de Tillmans¹¹. Nestes métodos citados, outros agentes redutores e oxidantes interferem na determinação do ácido ascórbico.

Métodos analíticos para determinação do ácido ascórbico, em muitos tipos de produtos, foram desenvolvidos com base em seu comportamento polarográfico⁵. Esses métodos

* Realizado no Serviço de Química Aplicada do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

fundamentam-se na oxidação do grupo enediol da molécula junto ao eletrodo de mercúrio, em um processo envolvendo dois elétrons.

Foi observado que a onda anódica obtida com o ácido ascórbico era deslocada com relação aos diferentes valores de pH e que a oxidação não era completamente reversível, pois o ácido deidroascórbico não é reduzido no eletrodo de mercúrio⁶. Alguns autores afirmam que grandes concentrações de substâncias tensoativas podem interferir na onda polarográfica do ácido ascórbico⁸.

Normalmente, formulações contendo ácido ascórbico, destinadas ao fabrico de pães pré-embalados, isto é, não destinados ao consumo imediato, apresentam os tensoativos, polissorbato 60 e polissorbato 80, permitidos pela nossa legislação^{2,3}, com a finalidade de conferirem propriedades emulsificantes às massas panificáveis. Na determinação do ácido ascórbico nessas formulações, pelos métodos volumétricos convencionais, o ponto final da titulação não é nítido e nem preciso, devido à interferência dos emulsificantes. DES-SOUKY *et alii*⁷ estabeleceram metodologia para determinação de ácido ascórbico em presença do polissorbato 80, onde o tensoativo é removido por extração com butanol, antes da determinação iodométrica do ácido ascórbico. Este método envolve extração com solvente que, em muitas formulações, pode produzir emulsões difíceis de separação, acarretando erros na determinação do ácido ascórbico.

Tendo em vista a necessidade de uma nova metodologia para determinação rápida e precisa de ácido ascórbico em formulações que contêm polissorbato 60 ou 80, estabelecemos método polarográfico onde foram estudadas interferência dos aditivos monoesterato de polioxietileno-(8)-glicol, propionato de cálcio e estearoil-2-lactil lactato de sódio, permitidos pela legislação brasileira no preparo de produtos de panificação não destinados ao consumo imediato. Devido à impossibilidade de determinar ácido ascórbico em presença de bromato de potássio (aditivo não permitido em nossa legislação), pelos métodos disponíveis, foi estudada a sua interferência no comportamento polarográfico do ácido ascórbico.

MATERIAL E MÉTODO

Material

Reagentes

Solução eletrólito suporte

Solução-tampão de acetato, Walpore⁶, pH 4,6

Soluções-padrão de ácido ascórbico

Solução I — Dissolver 0,1 g de ácido ascórbico p.a. em água desmineralizada e completar o volume com o mesmo solvente até 100 ml, em balão volumétrico.

Solução II — Transferir 10 ml da solução I para balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com solução eletrólito suporte.

Polissorbatos 60 e 80

Monoestearato de polioxietileno(20) sorbitana *

Monoleato de polioxietileno(20)sorbitana *

Aparelho

Polarógrafo Methrom, mod. E 261 R — E 354 S

Condições instrumentais: voltagem inicial, 1 V; escala de voltagem, 0; sensibilidade, 1×10^{-7} A/mm; tempo de gotejamento, 3 s; amortecimento, 0; compensação de carga, 0; corrente de carga, 0; eletrodo de referência, Ag/AgCl.

Método

a) *Efeito dos polissorbatos 60 e 80 na onda polarográfica do ácido ascórbico*

Procedimento — Transferir 10 ml da solução-padrão II de ácido ascórbico para uma série de 14 balões volumétricos de 100 ml. Colocar nos sete primeiros balões, respectivamente, 0, 2, 10, 100, 1.000 e 10.000 mg de polissorbato 60 e, nos balões restantes, colocar polissorbato 80 nas mesmas quantidades acima mencionadas. Completar o volume de todos os balões com a solução do eletrólito suporte e transferir alíquotas de 20 ml de cada uma das soluções para celas polarográficas. Borbulhar nitrogênio durante 5 minutos. Sendo necessário, adicionar uma gota de álcool etílico p.a. para reprimir a formação de espuma. Registrar os polarogramas de cada uma das soluções e calcular as correntes de difusão.

b) *Verificação da linearidade da concentração de ácido ascórbico em função da corrente de difusão*

Procedimento — Transferir, para balões volumétricos de 100 ml, alíquotas correspondentes aos volumes de 1, 2, 4, 10, 15, 20 e 25 ml da solução de ácido ascórbico (solução I) e, em cada um dos balões, adicionar água desmineralizada. Colocar em todos os balões 1 ml de solução aquosa de polissorbato 80, a 0,1% (p/v), e completar os volumes finais

* Tensoativos fabricados por Nutricional Biochemicals Corporation, USA.

com solução de eletrólito suporte. Pipetar 20 ml de cada uma das soluções, colocar em celas polarográficas e, após o borbulhamento do nitrogênio, por cinco minutos, registrar os polarogramas e medir as respectivas correntes de difusão. Paralelamente, desenvolver o polarograma com uma solução designada branco, constituída de 25 ml de água desmineralizada, 1 ml de solução de polissorbato 80, a 0,1%, e solução de eletrólito suporte até completar o volume de 100 ml.

c) *Verificação da interferência de algumas substâncias químicas na onda polarográfica do ácido ascórbico*

Procedimento — Utilizar quatro balões volumétricos de 100 ml contendo cada um a mistura constituída de 10 ml de solução-padrão de ácido ascórbico (solução II) e 1 ml da solução de polissorbato 80, a 0,1%; colocar em cada um deles, respectivamente, 1 g das seguintes substâncias: estearoil-2-lactil lactato de sódio, monoestearato de polioxietileno (8) glicol, propionato de cálcio e bromato de potássio. Completar os volumes com solução eletrólito suporte, homogeneizar e registrar os polarogramas como anteriormente.

d) *Determinação quantitativa do ácido ascórbico*

Preparo da amostra — Pesar determinada quantidade da amostra, correspondente a 100 mg de ácido ascórbico, transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com água desmineralizada. Após a homogeneização, se houver algum material não dissolvido, filtrar imediatamente a solução, na ausência de luz direta. Transferir 10 ml dessa solução para balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com solução do eletrólito suporte.

Preparo do padrão — Transferir 10 ml da solução-padrão de ácido ascórbico (solução I) para balão volumétrico de 100 ml. Adicionar à solução determinada quantidade de polissorbato 60 ou 80 correspondente àquela existente na tomada da amostra, e completar o volume com solução do eletrólito suporte.

Determinação do ácido ascórbico — Pipetar 20 ml da solução da amostra, colocar em uma cela polarográfica; colocar o mesmo volume da solução-padrão em outra cela. Remover o oxigênio dissolvido por borbulhamento de nitrogênio puro e registrar os polarogramas

nas condições instrumentais preestabelecidas. Determinar os valores das alturas das respectivas ondas polarográficas. Calcular a concentração de ácido ascórbico na amostra pela relação:

$$\frac{10.000 \text{ } ^hA}{x \text{ } ^hP} = cA$$

hA e hP = alturas, respectivamente, das ondas polarográficas da solução da amostra e da solução do padrão.

cA = concentração de ácido ascórbico, em mg/100 ml.

x = peso da amostra analisada.

RESULTADOS

Os efeitos dos emulsificantes polissorbatos 60 e 80, na onda polarográfica do ácido ascórbico, estão representados nas figuras 1 e 2 (p. 136 e 137). A onda anódica apresenta um máximo que é suprimido na presença do polissorbato 60, na concentração de 10 mg/100 ml e, na presença do polissorbato 80, na concentração de 2 mg/100 ml.

Observando-se a tabela (p. 138), pode-se afirmar que, até a concentração de 100 mg/100 ml, os emulsificantes praticamente não influíram na onda polarográfica do ácido ascórbico e que, em concentrações elevadas, houve um decréscimo pronunciado no valor de sua altura.

Para o estabelecimento de um método polarográfico é condição necessária a verificação da linearidade entre as concentrações das substâncias analisadas e as respectivas correntes de difusão, calculadas a partir dos polarogramas registrados, em determinadas condições instrumentais impostas. As figuras 3 e 4 (p. 138 e 139) representam, respectivamente, os polarogramas registrados e a curva correspondente à linearidade entre as concentrações de ácido ascórbico e as correntes de difusão, demonstrando que houve obediência à equação de Ilkovic (MEITES⁹).

O estudo das interferências das substâncias testadas em concentrações elevadas com relação ao ácido ascórbico, não revelou nenhuma alteração nas suas ondas anódicas, demonstrando a perfeita aplicação do método proposto às formulações de panificação.

O teste de recuperação do ácido ascórbico, de acordo com o método estabelecido, variou de 99 a 100%, indicando ser de precisão suficiente para sua determinação em formulações contendo os citados tensoativos.

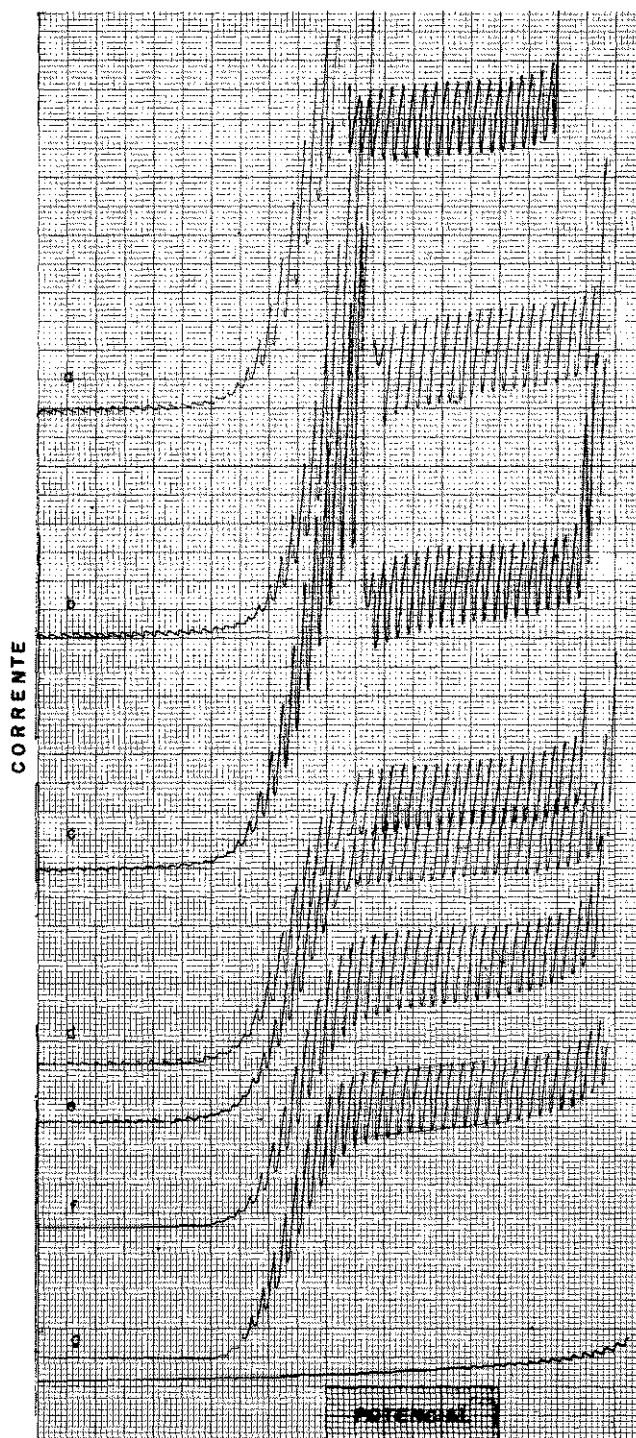


FIGURA 1 — Efeito do polissorbato 80 na onda anódica do ácido ascórbico: a) sem polissorbato 80; b) com 0,1 mg de polissorbato 80; c) com 0,2 mg de polissorbato 80; d) com 0,4 mg de polissorbato 80; e) com 2 mg de polissorbato 80; f) com 20 mg de polissorbato 80; g) com 200 mg de polissorbato 80; h) eletrólito suporte com polissorbato 80 (corrente residual).

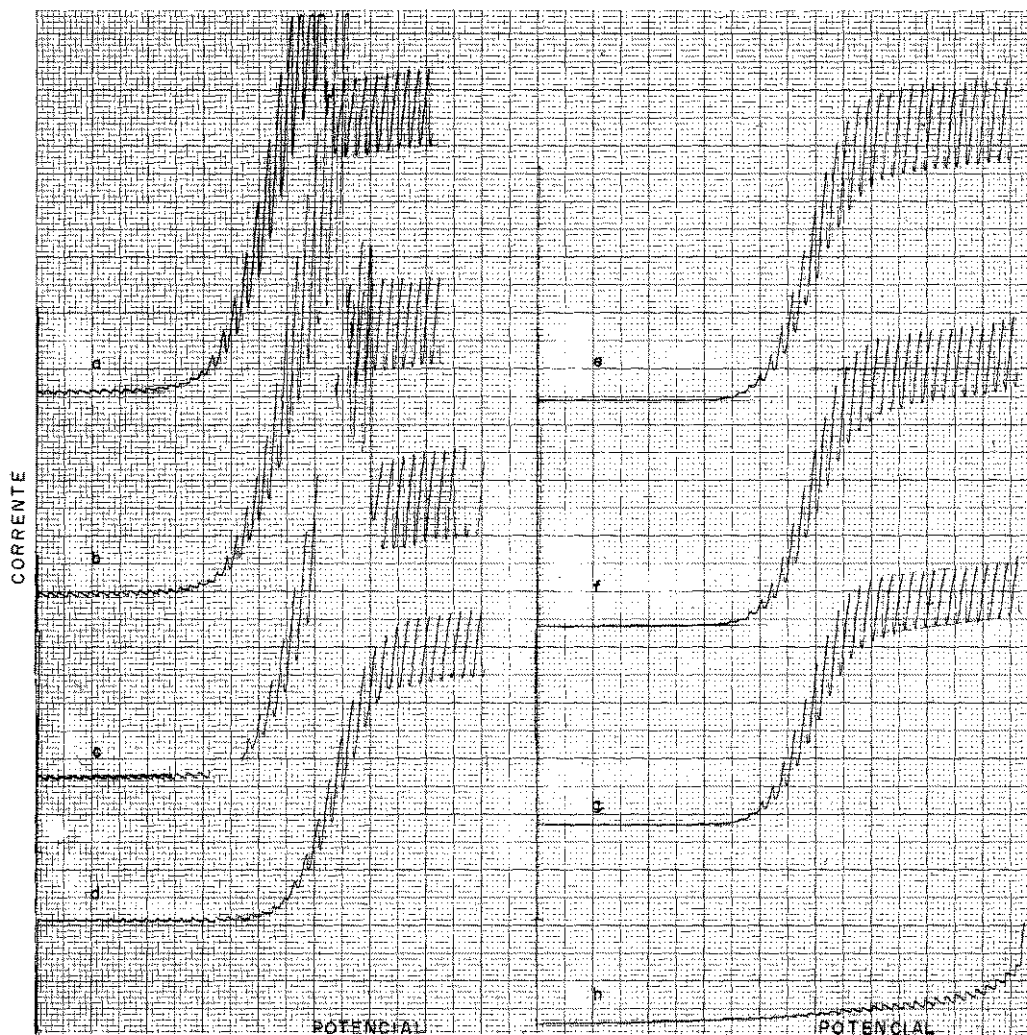


FIGURA 2 — Efeito do polissorbato 60 na onda anódica do ácido ascórbico: a) sem polissorbato 60; b) com 0,1 mg de polissorbato 60; c) com 0,2 mg de polissorbato 60; d) com 0,4 mg de polissorbato 60; e) com 2 mg de polissorbato 60; f) com 20 mg de polissorbato 60; g) com 200 mg de polissorbato 60; h) eletrólito suporte com polissorbato 60 (corrente residual).

TABELA

Efeito das concentrações dos polissorbatos 60 e 80 na altura da onda anódica do ácido ascórbico

Polissorbato 60 mg/100 ml	Altura da onda cm	Polissorbato 80 mg/100 ml	Altura da onda cm
0,0	4,8	0,0	4,8
0,5	4,8	0,5	4,8
1,0	4,8	1,0	4,8
2,0	4,8	2,0	4,7
10,0	4,8	10,0	4,8
100,0	4,8	100,0	4,7
1.000,0	4,6	1.000,0	4,6
10.000,0	3,9	10.000,0	3,5

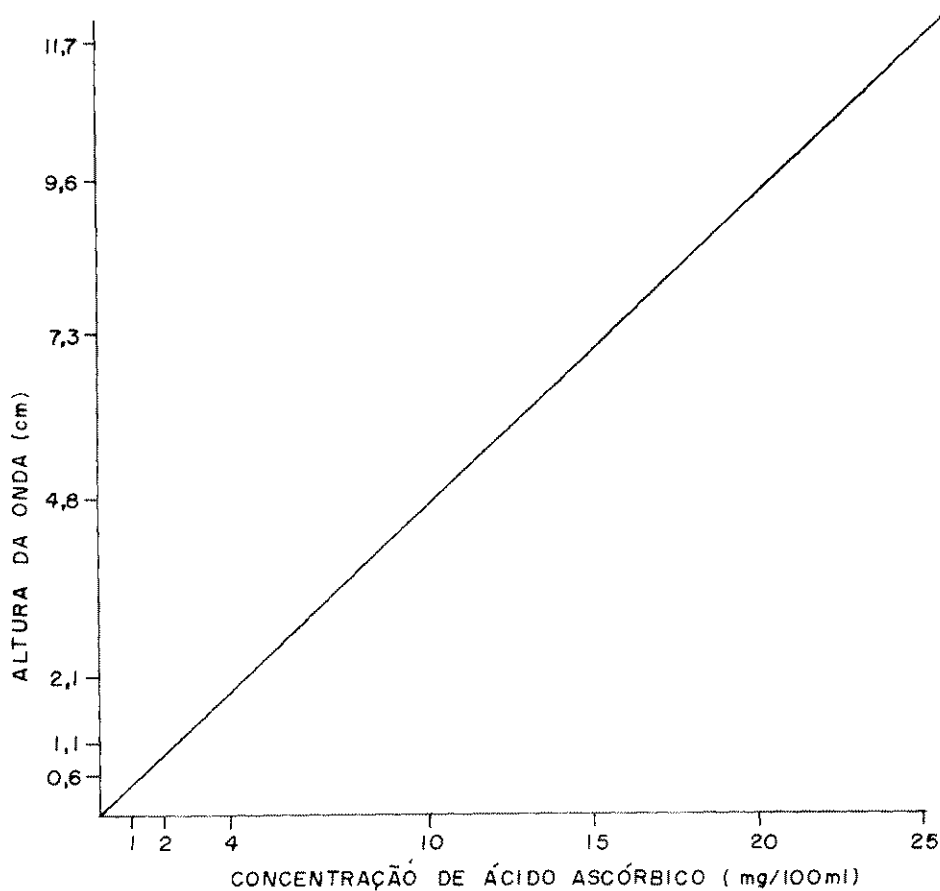


FIGURA 3 — Curva-padrão de soluções de ácido ascórbico.

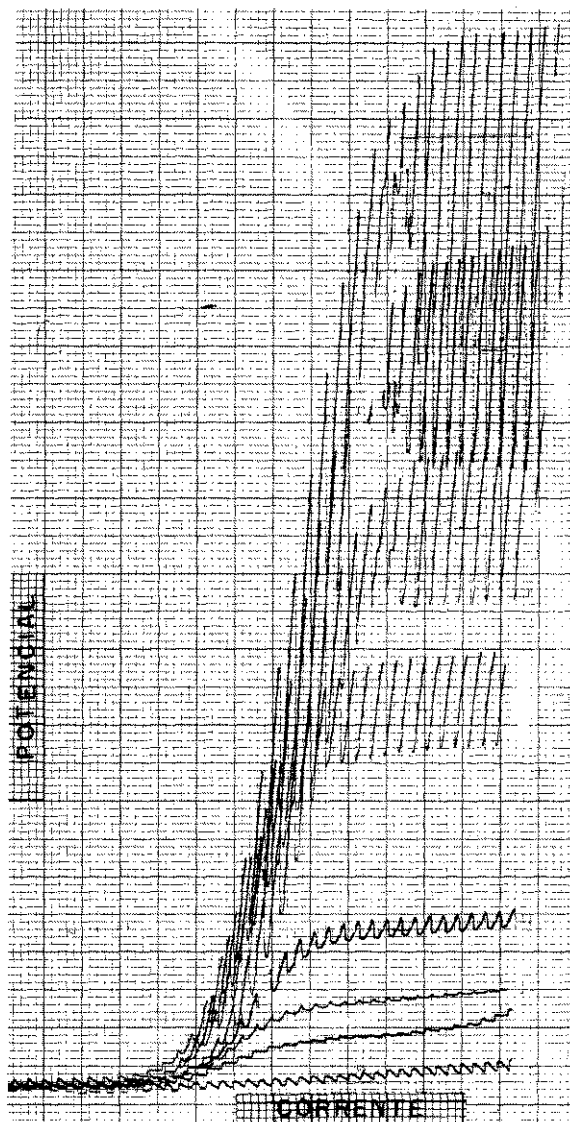


FIGURA 4 — Polarograma de soluções-padrão de ácido ascórbico.

CONCLUSÃO

O método proposto para determinar ácido ascórbico em produtos de panificação que contêm polissorbato 60 ou 80 é adequado à rotina pela sua simplicidade, rapidez e precisão. Neste método, não há destruição da amostra analisada, podendo ser esta utili-

zada várias vezes para verificação de seu comportamento polarográfico. Outra razão para o emprego do referido método é a vantagem de fornecer, além do resultado quantitativo, informação qualitativa da substância analisada, revelada pelo valor do potencial de meia-onda. Os demais métodos não são específicos e neles qualquer outro agente redutor presente poderia ser dosado.

RIALA6/583

ZENEON, O.; SABINO, M. & CORRÊA, M.J. — Polarographic determination of ascorbic acid in bread products containing polysorbate 60 or 80. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(2):133-140, 1984.

ABSTRACT: The polarographic method was employed for determination of ascorbic acid in the presence of Polysorbate 60 or 80 in bread products because of the lack of precision of the usual procedures. Anodic oxydation of ascorbic acid was made in the presence of acetate buffer solution at pH 4.6. The interference of some food additives permitted for bread products and of potassium bromate were studied.

DESCRIPTORS: L-ascorbic acid, determination in bread products containing polysorbate 60 or 80; bread products, ascorbic acid determination by polarography.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAUERNFEIND, J.C. & PINKERT, D.M. — Food processing with added ascorbic acid. In: CHICHESTER, C.O.; MRAK, E.M. & STEWART, G.F., ed. — *Advances in food research*. New York, Academic press., 1970. v. 18, p. 219-305.
2. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução n.º 10/69 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 16 set. 1970. Seção I, pt. I, p. 8059. Permite o uso, como estabilizantes e agentes de dispersão, dos ésteres de sorbatana com ácidos graxos comestíveis...
3. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução n.º 24/77 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 6 set. 1977. Seção I, pt. I, p. 11810. Estende o emprego de Polissorbato 80 (mono-oleato de polioxietileno 20) sorbitana, como estabilizante...
4. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução n.º 38/77 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 21 dez. 1977. Seção I, pt. I, p. 17594. Aprova como coadjuvantes da tecnologia de fabricação as substâncias constantes dos anexos I, II, III e IV, destinadas ao fabrico dos produtos fornecidos.
5. BREZINA, M. & ZUMAN, P. — *Polarography in medicine, biochemistry and pharmacy*. Translated from the Czech by S. Wanzonek. Rev. English ed. New York, Interscience publ., 1958. p. 401-22.
6. Ibid. p. 731.
7. DESSOUKY, Y.M.; HUSSEIN, F.T. & ISMAIEL, S.A. — Determination of ascorbic acid in the presence of polysorbate 80. *Pharmazie*, 28:791-2, 1973 apud *Anal. Abstr.*, 27(1), 1974. [Abstr. 368]
8. KOLTHOFF, I.M. & LINGANE, J.J. — *Polarography*. 2nd ed, New York, Interscience publ., 1952. v. 2, p. 727-8.
9. MEITES, L. — *Polarographic techniques*. 2nd ed., 2nd print. New York, Interscience publ., 1967. p. 114.
10. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: *métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3^a ed, São Paulo, 1985. p. 393-5.
11. STROHECKER, R. & HENNING, H.M. — *Vitamin assay: tested methods*. Translated by D.D. Libman. 2nd print. rev., 1966. Darmstadt, Verlag Chemie, 1966, p. 231-3.

Recebido para publicação em 20 de fevereiro de 1984.