

## VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C) EM MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS E ALOPÁTICOS

ANALYTIC METHODOLOGY VALIDATION FOR DETERMINATION OF ASCORBIC ACID (VITAMIN C) IN ALLOPATHIC AND FITOTHERAPIC MEDICATION

Carla Renata Merlo\*  
Miriam Ribeiro Alves\*\*  
Suzana Mali\*\*\*

### RESUMO:

O ácido ascórbico (vitamina C), substância orgânica simples, tem despertado interesse nos últimos anos devido aos efeitos benéficos relatados e assim vem sendo muito empregada na produção de cosméticos e medicamentos. A quantificação da vitamina C está descrita na Farmacopéia Brasileira, IV Edição; no entanto, faltam maiores subsídios nos casos em que há variação quanto ao tipo de amostra a ser analisada. Diante disso, os objetivos do presente trabalho foram validar uma metodologia analítica baseada na titulometria de óxido-redução, de acordo com os parâmetros da legislação brasileira (RDC ANVISA – 899/2003), para a determinação da vitamina C em medicamentos fitoterápicos e alopáticos. Paralelamente procurou-se treinar estudantes de graduação em todo o processo de validação, possibilitando um conhecimento importante para a inserção deles no mercado de trabalho. A amostra do medicamento alopático utilizada foi de comprimidos efervescentes contendo 1 g. de vitamina C (Cebion®) e, a do medicamento fitoterápico, foi constituída por cápsulas de acerola com 60 mg. de vitamina C (Bionatus®). O método analítico aplicado para a quantificação da vitamina C mostrou-se adequado dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira para a validação, exceto para o parâmetro precisão, que para o Bionatus® mostrou-se fora dos padrões, provavelmente devido à não uniformidade das amostras.

89

**PALAVRAS-CHAVE:** Precisão; Exatidão; Robustez; Linearidade.

### ABSTRACT:

The ascorbic acid (vitamin C), simple organic substance, has raised interest lately due to benefic effects reported and thus has been quite used in the cosmetics and medication production. The amount of vitamin C is described in Farmacopéia Brasileira, 4<sup>th</sup> Edition; nevertheless, there is a lack of subsidies in cases that there is variation as to the type of sample to be analyzed. Thus, the objectives of this study are to validate an analytic methodology based on the oxide-reduction titlometrics, in accordance to the Brazilian legislation patterns (RDC ANVISA – 899/2003), for the determination of vitamin C in allopathic and fitotherapic medications. Close to it, there was training of graduation students in al validation process, making possible an important knowledge to their work market insertion. The allopathic medication sample used was effervescent pills containing 1g. of vitamin C (Cebion®) and, the fitotherapic medication was composed by Barbados cherry capsules containing 60mg. of vitamin C (Bionatus®). The analytic method applied to the vitamin C quantification appeared inside the limits established by the Brazilian legislation for validation, patterns, probably due to the samples uniformity.

**KEY WORDS:** Precision; Accuracy; Vigour; Linearness.

\*Graduanda do 4º ano do Curso de Farmácia da UniFil.

\*\*Doutora em Química Analítica. Docente da Uel e UniFil. E-mail: miriam.maiola@unifil.br

\*\*\*Farmacêutica – Bioquímica. Doutora em Ciência de Alimentos. Docente do Dep. de Bioquímica e Biotecnologia da UEL. E-mail: smali@dilk.com.br

## INTRODUÇÃO

A validação de métodos analíticos é um importante requisito que dá suporte às atividades de análise química e de garantia da qualidade de produtos das indústrias química, farmacêutica, alimentícia, de cosméticos, e outras. As características de desempenho dos produtos são expressas em termos de parâmetros ou variáveis analíticas (FONSECA *et al.*, 2004).

O ácido ascórbico (vitamina C), substância orgânica de molécula simples, tem despertado interesse nos últimos anos devido a muitos efeitos benéficos relatados com relação a esta vitamina. Tem sido muito empregada na produção de cosméticos e medicamentos, e também como aditivo em alimentos (PAIM, KRONKA & REIS, 1998). A quantificação do ácido ascórbico está descrita na Farmacopéia Brasileira, IV Edição. Contudo, há carência de subsídios quando varia o tipo de amostra a ser analisada. Consequentemente, torna-se interessante a validação da metodologia para diferentes tipos de amostras, como medicamentos alopáticos e fitoterápicos que contenham o ácido ascórbico como princípio ativo, possibilitando, então, o uso da metodologia com maior confiabilidade.

Diante do exposto, o objetivo da presente pesquisa foi validar uma metodologia analítica baseada na titulometria de óxido-redução, de acordo com os parâmetros da legislação brasileira (RDC ANVISA – 899/2003), para a determinação de ácido ascórbico (Vitamina C) em medicamentos fitoterápicos e alopáticos. Adicionalmente foi possível treinar acadêmicos de graduação em todo o processo de validação, implementando um treinamento importante para a formação profissional dos estudantes.

90

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

Foram utilizados reagentes de pureza analítica (PA) para a análise do ácido ascórbico, tanto em uma substância padrão (ensaio), como nos medicamentos escolhidos para a análise. A amostra de medicamento alopático foi de comprimidos efervescentes com 1 g. de vitamina C (Cebion<sup>®</sup>) e, a da droga fitoterápica, foi de cápsulas de acerola com 60 mg. de vitamina C (Bionatus<sup>®</sup>).

### Métodos

A metodologia empregada para a determinação do ácido ascórbico teve como princípio de quantificação a Volumetria ou Titulometria de Óxido Redução (Iodimetria), empregando a solução de iodo como agente titulante (Farmacopéia Brasileira, IV Edição).

O processo de validação desta metodologia foi baseado na Resolução 899 da ANVISA (2003) e, devido ao fato de se tratar de um método normalizado pela Farmacopéia Brasileira, IV Edição, foram avaliados os seguintes parâmetros: precisão (repetibilidade), linearidade, exatidão e robustez.

Todas as análises estatísticas necessárias ao processo de validação foram realizadas em Programa Computacional Estatística Versão 6.0 (*Statsoft – Oklahoma*).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A precisão do método, conceituada como repetibilidade, foi estimada como sendo a concordância entre os resultados, dentro de um curto período de tempo e com o mesmo analista e mesma instrumentação. A repetibilidade do método foi verificada por 9 determinações, contemplando o intervalo linear do método (dados não apresentados), com 3 concentrações: baixa, média e alta, e com 3 réplicas cada uma delas. Foi observado que para as amostras de medicamentos alopáticos, o coeficiente de variação máximo foi de 1,06%, estando de acordo com os valores permitidos pela legislação brasileira para validação (RDC 899 - 2003), que exige, no máximo, 5% de variação. Quando foram analisadas as amostras de medicamentos fitoterápicos, os coeficientes variaram de 4,8 a 8,1 %, ultrapassando os limites estabelecidos, dependendo da concentração da amostra. Provavelmente, a precisão com relação aos fitoterápicos, situou-se fora dos padrões devido à não uniformidade das amostras.

A linearidade do método foi determinada pela análise de 5 concentrações diferentes do padrão de vitamina C (0,08; 0,09; 0,10; 0,11 e 0,12 g./mL.). As análises foram realizadas com duas repetições, e as duas curvas obtidas estão apresentadas na Figura 1 (a,b) Não houve diferença estatística entre os resultados das curvas. O coeficiente de correlação (r) foi igual a 1,0 nos dois casos, podendo-se observar que os modelos derivados da regressão linear se adequaram bem aos dados experimentais; portanto, a linearidade do método atendeu aos critérios mínimos aceitáveis pela legislação.

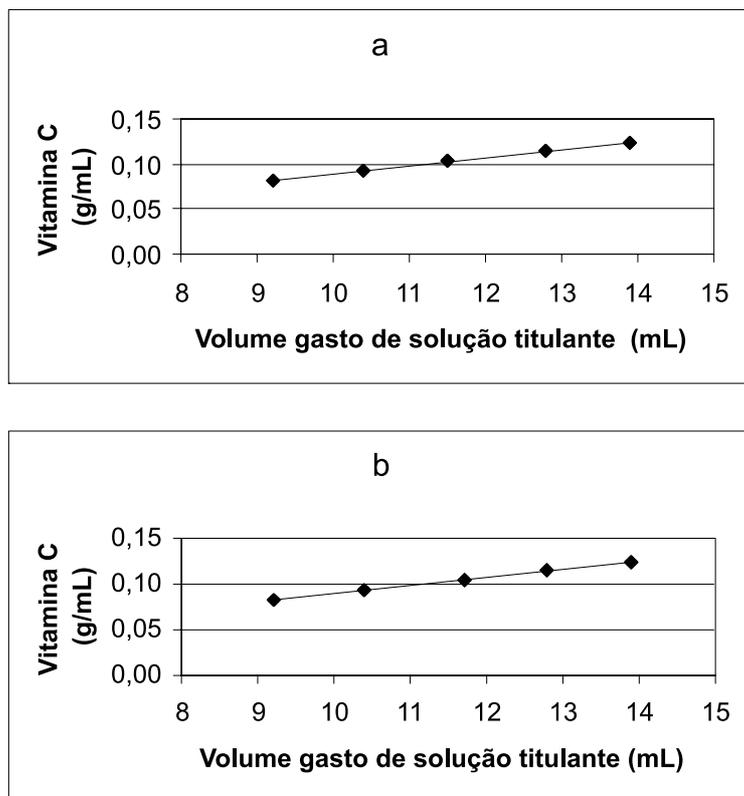


Figura 1 – Curvas de volume gasto da solução titulante *versus* concentração de vitamina C: (a) repetição 1 – modelo matemático ( $y=0,009x + 7.10^{-16}$ ); e (a) repetição 2 – modelo matemático ( $y=0,009x - 1.10^{-15}$ ). A linha deriva do modelo matemático linear e, os pontos, dos dados experimentais.

A exatidão de um método analítico consubstancia-se na proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. No presente trabalho, a exatidão foi determinada aplicando-se a metodologia analítica proposta para a análise de uma substância de pureza conhecida (padrão de vitamina C). A exatidão do método foi obtida a partir de 9 determinações contemplando o intervalo linear do procedimento, ou seja, 3 concentrações: baixa, média e alta, com 3 réplicas cada.

Nas três diferentes concentrações, 0,10; 0,11 e 0,12 g/mL de vitamina C, a exatidão foi de 100, 99 e 98%, respectivamente, valores que ficaram, também, dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação.

A robustez de um método analítico é a medida de sua capacidade para resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos e indica o grau de confiança do método durante o uso normal. Ao longo do desenvolvimento da metodologia, houve variação da marca do reagente empregado para o preparo da solução padrão de iodo; esta modificação não gerou alterações significativas no resultado do doseamento, realizado, tanto nas amostras de medicamentos alopáticos quanto nas de fitoterápicos.

## CONCLUSÕES

O método analítico aplicado para a quantificação de vitamina C mostrou-se adequado aos limites estabelecidos pela legislação brasileira para validação, exceto para o parâmetro precisão, que para os medicamentos fitoterápicos apresentou-se além dos padrões, provavelmente devido à não uniformidade das amostras.

92

## REFERÊNCIAS

ANVISA. *Resolução 899 de 29 de maio de 2003*. Disponível em, <[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>. Acessado em 20 de setembro de 2004.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV. 4.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 1988.

FONSECA, Said G. C., SILVA, Leila B. L. da, CASTRO, Rebeqa F. *et al.* Validation of the Analytical Methodology for Evaluation of Lapachol. In: Solution by HPCL. *Quím. Nova*. v.27, n.1, jan./feb., p.157-159, 2004.

PAIM, Ana Paula S.; KRONKA, Eloisa Ap. M.; REIS, Boaventura F. *et al.* Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Drugs Employing Binary Sampling in Flow System. *Quím. Nova*. v.21, n.1, jan./feb., p.47-50, 1998.

UNITED STATES PHARMACOPEIA - NATIONAL FORMULARY. USP 26 NF21. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, Inc., 2003.