



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**BRUNA MARIA TAVARES DE MELO**

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR TITULOMETRIA PARA  
DETERMINAÇÃO DE TEOR DO PRODUTO ACABADO VITAMINA C 500 MG**

Recife

2022

Bruna Maria Tavares de Melo

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR TITULOMETRIA PARA  
DETERMINAÇÃO DE TEOR DO PRODUTO ACABADO VITAMINA C 500 MG**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como requisito para a conclusão da Graduação em Farmácia, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco.

Orientador: Dr. Antônio Rodolfo de Faria

Coorientador: Bruno Aires dos Santos

Recife

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

MELO, Bruna Maria Tavares de.

Validação de método analítico por titulometria para determinação de teor do produto acabado Vitamina C 500 mg / Bruna Maria Tavares de MELO. - Recife, 2022.

40 : il., tab.

Orientador(a): Antônio Rodolfo de FARIA

Coorientador(a): Bruno Aires dos SANTOS

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2022.

1. Comprimido. 2. Controle de qualidade. 3. Estudo de validação. 4. Titulação. 5. Vitamina C. I. FARIA, Antônio Rodolfo de. (Orientação). II. SANTOS, Bruno Aires dos. (Coorientação). III. Título.

610 CDD (22.ed.)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**



Aprovada em: 15/10/2022.

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ANTONIO RODOLFO DE FARIA  
Data: 04/11/2022 16:36:15-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria  
(Presidente e Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** DENIS ROBERTO DA SILVA  
Data: 06/11/2022 21:10:19-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Dênis Roberto da Silva  
(Examinador)  
Mestrando Universidade Federal De Pernambuco

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** FELIPE NEVES COUTINHO  
Data: 05/11/2022 16:24:01-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

---

Prof. Dr. Felipe Neves Coutinho  
(Examinador)  
UniSão Miguel

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por tudo que me foi concedido durante esta jornada de cinco anos, que não se limita à graduação, o que compreende desde a minha aprovação no vestibular até meu último dia como graduanda, mas também por todas as vivências que marcaram este percurso e pela força que Ele me deu durante esses anos. Agradeço também a Nossa Senhora, que também intercedeu muito pela minha vida. É notório o quanto Ela cuidou de mim em vários momentos.

Agradeço aos meus pais, Mônica e Ailton, por tudo, pela dedicação que tiveram comigo, pelo apoio e torcida. A conquista da minha finalização da graduação e dos meus feitos durante esta jornada não são apenas meus, mas são deles também. Agradeço ao meu irmão Bruno pelo companheirismo e por estar sempre ao meu lado. Agradeço também a todos da minha família, tios, primos, avós e a todos os meus amigos por sempre acreditarem, torcerem por mim, e estarem juntos comigo em todas as situações.

Agradeço ao professor Antônio Rodolfo de Faria, por todos esses anos de orientação, pela paciência e por todos os ensinamentos que foram repassados. É uma honra ser uma aluna dele.

Agradeço aos meus grandes amigos de graduação, meu grupinho Donos do RU. Amanda Calazans, Ítala Kássia, Carla Cauanny, Daywison Silva, Alberto Cruz. Não sei como retribuir o que vocês já fizeram de bom para mim. Obrigada pela torcida, ajudas, risadas e por me acolherem sempre.

Agradeço a todos os meus amigos que construí durante os anos no Laboratório de Síntese Orgânica Aplicada a Fármacos pela amizade, conselhos e ensinamentos. Felipe Coutinho, Marlene Saraiva, Jéssica Bezerra (*in memoriam*), Mylena Lira, Lucas Lima, Dênis Roberto, Eduarda Karynne, Ana Luiza Pereira e Gabriella Zacarias.

Agradeço ao LAFEPE pela oportunidade de realizar o estágio que somou muito na minha graduação e de escrever monografia para a construção do meu trabalho de conclusão de curso. Agradeço aos farmacêuticos Bruno Aires, pela orientação; Aíla Santana, pela supervisão e Déborah Bezerra, pelo seu carinho. Agradeço, também, aos técnicos Cecília Regina, Ivo Lourenço, Jadon Jorge e João

Victor Ribeiro pela amizade, orientação e por todas contribuições que agregam à minha vida profissional. Agradeço aos estagiários que estiveram junto comigo neste estágio, Carolina Pôrto, Rafaela Carvalho, Matheus Barbosa, Laryssa Beatriz, João Victor Sena, pela amizade, companheirismo e troca de conhecimentos.

Agradeço ao HMAR pela oportunidade da realização do meu último estágio, que está agregando muito à minha vida profissional, trazendo ensinamentos para meu crescimento pessoal. Agradeço aos tenentes, sargentos e estagiários pelos valiosos ensinamentos repassados.

Agradeço a todas as pessoas que passaram pela minha vida, que me ajudaram de alguma maneira e que contribuíram para minha formação.

## RESUMO

A Vitamina C é um micronutriente essencial ao organismo, com função de otimizar o sistema imunológico, de inativar espécies reativas de oxigênio, e entre outras funções. Para implementar a produção de um suplemento alimentar, convém validar os métodos de controle de qualidade do produto acabado, a fim de provar que os testes atendam aos objetivos e requisitos mínimos para que seja usado rotineiramente. Este trabalho objetiva validar parcialmente um método de doseamento do comprimido de Vitamina C 500 mg por titulometria, já descrito na Farmacopeia Brasileira. A metodologia dos ensaios foi baseada para avaliar os parâmetros da seletividade, precisão e exatidão. Quanto à seletividade, o teste mostrou apenas dosear o ativo, e não outros componentes. A precisão demonstrou que os valores obtidos são estatisticamente homogêneos, sendo avaliado os níveis da repetibilidade, feito em um laboratório, com o desvio padrão relativo inferior ao desvio padrão relativo aceitável; e da reprodutibilidade, comparando os valores obtidos em dois laboratórios, com o desvio padrão inferior relativo ao desvio padrão relativo aceitável, valor de T inferior ao T crítico e Valor de F inferior ao F crítico. Para a exatidão, os níveis avaliados são relacionados à concentração do analito, em comparação com os respectivos valores de referência, e para cada nível os desvios padrão relativo menor ao desvio padrão relativo aceitável. Portanto, segundo o documento ICH Q2 (R1), o presente método realizado atende aos requisitos de seletividade, precisão e exatidão.

Palavras-chave: Comprimido, controle de qualidade, estudo de validação, titulação, vitamina C.

## **ABSTRACT**

Vitamin C is an essential micronutrient for the body, with the function of optimizing the immune system, inactivating reactive oxygen species, and among other functions. To implement the production of a food supplement, it is convenient to validate the quality control methods of the finished product, in order to prove that the tests meet the objectives and minimum requirements for it to be used routinely. This work aims to partially validate a method of dosing Vitamin C 500 mg tablet by titration, already described in the Brazilian Pharmacopoeia. The assay methodology was based to evaluate the parameters of selectivity, precision and accuracy. As for selectivity, the test showed only dosing the active, and not other components. The precision showed that the values obtained are statistically homogeneous, being evaluated the levels of repeatability, done in a laboratory, with the relative standard deviation lower than the acceptable relative standard deviation; and reproducibility, comparing the values obtained in two laboratories, with the lower standard deviation relative to the acceptable relative standard deviation, T value lower than the critical T and F value lower than the critical F. For accuracy, the levels assessed are related to the analyte concentration, compared to the respective reference values, and for each level the relative standard deviation is less than the acceptable relative standard deviation. Therefore, according to document ICH Q2 (R1), the present method performed meets the requirements of selectivity, precision and accuracy.

**Keywords:** Tablets, quality control, titration, validation study, vitamin C.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estruturas do ácido ascórbico e ácido desidroascórbico. ....	19
Figura 2 - Reação de óxido-redução do ácido ascórbico com iodo molecular. ....	27
Figura 3 - Equação de Horwitz .....	31
Figura 4 - Seletividade. ....	32
Figura 5 - Repetibilidade. ....	33
Figura 6 - Reprodutibilidade. ....	35
Figura 7 - Exatidão. ....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Metodologia para o teste de seletividade. ....	29
Tabela 2 - Metodologia para o teste de exatidão. ....	30
Tabela 3 - Resultados da repetibilidade. ....	33
Tabela 4 - Resultado da Reprodutibilidade. ....	34
Tabela 5 - Resultado do Teste t <i>Student</i> . ....	35
Tabela 6 - Resultado da Exatidão. ....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – Ácido Ascórbico

BPF – Boas Práticas de Fabricação

CMD – Concentração Média Determinada

COPEDE – Coordenadoria de Pesquisa e Desenvolvimento

COQUA – Coordenadoria de Controle de Qualidade

DHA – Ácido desidroascórbico

DP – Desvio Padrão

DPR – Desvio Padrão Relativo

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

GLO – Gene Glunolactona oxidase

ICH – International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use

LAFEPE – Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco

LRA – Lesão Renal Aguda

RD – Recomendação Dietética

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SI – Solução Indicadora

SV – Solução Volumétrica

UV - Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>16</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Objetivo geral .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>18</b>
<b>4. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1 Revisão da literatura sobre a vitamina C .....</b>	<b>19</b>
4. 1. 1 Histórico .....	19
4.1.2 Funções da Vitamina C no organismo .....	20
4.1.3 Vitamina C e suplementação em pacientes enfermos .....	22
4.1.4 Suplementação da Vitamina C .....	23
4.1.5 Toxicidade da suplementação da Vitamina C .....	23
<b>4.2 Validação analítica em indústria farmacêutica.....</b>	<b>24</b>
<b>4.3 Controle de qualidade do produto acabado em indústria farmacêutica... </b>	<b>25</b>
<b>4. 4 Princípio do método da titulação iodimétrica.....</b>	<b>26</b>
<b>5. METODOLOGIA .....</b>	<b>28</b>
<b>5.1 Preparo das soluções.....</b>	<b>28</b>
5. 1. 1 Amido SI.....	28
5. 1. 2 Ácido Sulfúrico .....	28
<b>5. 2 Procedimento da titulação .....</b>	<b>28</b>
5. 2. 1 Escolha da massa pesada de ácido ascórbico .....	29
<b>5. 3 Parâmetros avaliados para a validação da metodologia .....</b>	<b>29</b>
5. 3. 1 Seletividade.....	29
5. 3. 2 Precisão .....	29
5. 3. 3 Exatidão .....	30
<b>5. 4 Tratamento estatístico .....</b>	<b>30</b>

5. 4. 1 Precisão .....	30
5. 4. 2 Exatidão .....	31
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>32</b>
<b>6.1 Seletividade .....</b>	<b>32</b>
6.2.1 Pesquisa & Desenvolvimento.....	32
6.2.2 Controle de Qualidade .....	34
<b>6. 3 Exatidão .....</b>	<b>36</b>
<b>8. CONCLUSÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>9. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>39</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Suplementos alimentares são produtos apresentados em formas farmacêuticas, administrados por via oral, que objetivam fornecer nutrientes complementares à alimentação de indivíduos saudáveis. Portanto, esses suplementos conferem uma maior garantia da manutenção da homeostase, assim como promovem o crescimento e o desenvolvimento do organismo (RDC 243).

A Vitamina C, ou ácido ascórbico, é um micronutriente amplamente utilizado no dia a dia da população como um suplemento alimentar. Linus Pauling, em seus estudos sobre a medicina ortomolecular, associou o uso da Vitamina C com a melhora do sistema imunológico, caracterizado pela prevenção e atenuação dos sintomas de resfriado. Estudos recentes comprovam o efeito do ácido ascórbico no aprimoramento de linfócitos T e B. Portanto, foi evidente o crescimento das vendas e utilização deste suplemento durante a pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2, assim como em surtos ocasionados por vírus respiratórios, como a influenza (LAURINDO; REIS; GORGETTI, 2021).

A Vitamina C é encontrada amplamente em alimentos de origem vegetal, como laranja, limão e kiwi. Alimentos de origem animal não possuem quantidades significativas do nutriente, contudo pode ser encontrado no leite e no fígado (ZHONGWEI, 2017). Além da promoção do sistema imunológico, o ácido ascórbico possui várias funções, estando envolvido na síntese de colágeno, de catecolaminas, proteção contra espécies reativas de oxigênio, etc (DOSEDEL *et al.*, 2021).

Na implementação de um produto novo dentro de uma indústria farmacêutica, além do desenvolvimento da formulação do medicamento ou suplemento, planejamento da produção e registro, a definição das análises que serão utilizadas dentro de uma rotina de controle de qualidade é indispensável neste processo. Antes da efetivação dos métodos analíticos na rotina de controle de qualidade, comprova-se se os testes atendem às exigências e se produzem resultados confiáveis, mediante a análise de parâmetros que fornecem evidências as quais garantem que o método atende aos objetivos para o uso. O nome deste procedimento chama-se validação analítica (JUNIOR *et al.*, 2017).

Em comprimidos de 500 mg de ácido ascórbico, um método analítico de controle de qualidade para doseamento de teor é realizado por titulação iodimétrica, utilizando solução de iodo molecular ( $I_2$ ) 0,05 M como titulante, solução de amido 2%

(m/v) como solução indicadora, solução de ácido sulfúrico 1M e água. É um método acessível, econômico e rápido, pois o resultado do teor é obtido após o término do procedimento (ANVISA, 2019).

## 2. JUSTIFICATIVA

A RDC 658/22 estabelece normas relativas às Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF), que devem ser implementadas e aplicadas em qualquer indústria farmacêutica. As BPF objetivam garantir que a produção e o controle de qualidade funcionem de maneira a atender aos padrões de qualidade exigidos para o uso pretendido e registro sanitário.

Na seção III, que dispõe sobre o controle de qualidade, em seu Artigo 14 define os requerimentos básicos do controle de qualidade dentro de uma indústria farmacêutica. Uma dessas exigências afirma: “os métodos analíticos devem ser validados”. Além disso, o Artigo 37, que define as atribuições do Responsável pelo controle de qualidade, deixa claro que deve-se garantir que as validações sejam realizadas. Mais uma vez na subseção III, que trata sobre as análises, em seu Artigo 253 reforça a execução do processo de validação analítica.

A Seção IV desta resolução sustenta que os estudos de validação fazem parte das BPF. Os estudos de validação devem estar presente nas situações abaixo, conforme descrito nos Artigos 176 e 177:

- Na obtenção de nova fórmula de fabricação ou método de preparação;
- Quando há alterações significativas no processo de fabricação, como mudança de equipamento ou materiais que têm potencial em alterar a qualidade do produto final.

É notório a relevância do ato de validação de método analítico dentro de uma indústria farmacêutica. O Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes (LAFEPE) planeja-se em produzir um novo produto, que é o suplemento alimentar em forma de comprimido de 500 mg de ácido ascórbico. Para tal feito, convém realizar a validação do método analítico titulométrico que será utilizado na rotina do laboratório de controle de qualidade. É um método eficaz, rápido, de baixo custo e que produz resultados logo após a finalização da análise. São vantagens necessárias e interessantes para controle de qualidade dentro de uma indústria farmacêutica.

A validação parcial do método analítico de doseamento do suplemento alimentar Vitamina C 500 mg seguirá os parâmetros do documento ICH Q2 (R1), que serão: seletividade, precisão e exatidão. Esse documento dispõe sobre a validação analítica de medicamentos e suplementos alimentares. Já o documento nacional que

dispõe sobre a validação analítica (RDC 166) é voltada apenas para medicamentos. A escolha destes três indicadores (seletividade, precisão e exatidão) se deve ao fato de que este método já é descrito em compêndio oficial, na Farmacopeia Brasileira 6ª edição.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Comprovar evidências de que a metodologia de doseamento quantitativo (teor) do produto acabado (Vitamina C 500 mg comprimido revestido) por titulação atende aos parâmetros da validação para suplementos alimentares, de acordo com o documento ICH Q2 (R1).

#### **3.2 Objetivos específicos**

Analisar os seguintes parâmetros da validação do método titulométrico para doseamento do produto acabado Vitamina C 500 mg comprimido revestido:

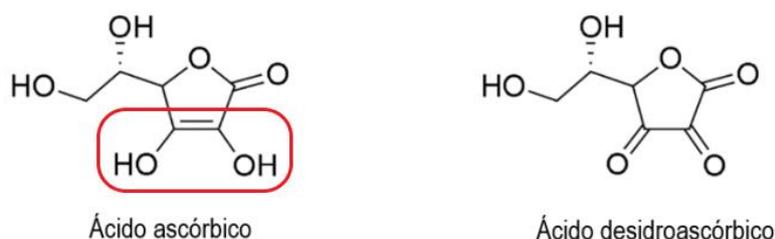
- Seletividade;
- Precisão;
- Exatidão.

## 4. REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 Revisão da literatura sobre a vitamina C

A vitamina C, ou ácido ascórbico (2-oxo-L-treohexônio-1,4-lactona-2,3-enediol), é uma vitamina hidrossolúvel que se apresenta na forma de dois isômeros: ácido L-ascórbico (forma ativa) e ácido D-ascórbico (forma inativa). É um composto que pertence ao grupo dos ácidos hexurônicos, e possui grupos funcionais oxigenados: enadiol, com grupo carbonilo adjacente, além de possuir um anel lactona de cinco membros (CUTRIM *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2017). A vitamina C pode ser encontrada na forma reduzida (ácido ascórbico - AA) ou oxidada (ácido desidroascórbico - DHA), com estruturas mostradas na Figura 1, com porção enadiol do AA em destaque. Algumas plantas, fungos e eucariontes podem sintetizar o ácido L-ascórbico, entretanto primatas e outros animais perderam a capacidade de síntese. No caso dos humanos, a mutação no gene L-gulonolactona oxidase (GLO), o qual possui função de codificar uma enzima capaz de catalisar a última etapa da via da síntese de ácido ascórbico em mamíferos, gerou a incapacidade da espécie em fabricar tal micronutriente (GRANGER, 2018; KOCOT *et al.*, 2018).

Figura 1 - Estruturas do ácido ascórbico e ácido desidroascórbico.



Fonte: elaborado pelo Autor.

#### 4.1.1 Histórico

Ao longo da história da humanidade, é possível visualizar a presença e importância da vitamina C. Os sintomas do escorbuto, doença relacionada com a deficiência do ácido ascórbico, são relatados em hieróglifos egípcios de 300 a. C. Além disso, essa doença tornou-se endêmica durante as Grandes Navegações, que

aconteceram no século XVI, na Europa. Pesquisadores do século XVIII descobriram a relação entre a ingestão de frutas cítricas e a cura do escorbuto, assim como documentaram métodos de conservar essas frutas para o consumo pelos marinheiros (SANTOS *et al.*, 2017).

O primeiro isolamento da vitamina C foi feito a partir da extração da molécula a partir de glândulas suprarrenais de bois, pelo professor da Universidade de Szeged, Szent-Györgyi, em 1928, levando à conquista do prêmio Nobel por tal feito. O pesquisador também determinou a fórmula molecular, e concluiu que a molécula possui propriedades ácidas e redutoras, sendo nomeada como ácido hexurônico, por Szent-Györgyi. A síntese do ácido ascórbico, para fins de produção industrial, ocorreu em 1933. Além disso, foi a primeira vitamina a ser sintetizada em laboratório (CAVALARI, 2018; STRELLER, 2020).

Os estudos acerca da correlação entre os benefícios da ingestão da vitamina no sistema imunológico foram iniciados por Linus Pauling, proporcionando a inauguração da medicina ortomolecular em 1968. Durante suas pesquisas, por meio de ensaios clínicos e metanálises, ele reforçou o papel do ácido ascórbico na imunidade, na prevenção e redução do tempo de manifestação de sintomas no resfriado comum. Além disso, ele popularizou, através de campanhas, os benefícios da ingestão diária da Vitamina C (SANTOS *et al.*, 2017).

#### **4.1.2 Funções da Vitamina C no organismo**

Estudos e pesquisas revelam que o ácido ascórbico possui propriedade de doação de elétrons. A vitamina C, também, está envolvida na síntese de colágeno, de catecolaminas, como a adrenalina, além de exercer função de neutralização do excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs), de redução do ferro no intestino, favorecendo a absorção do íon, e de contribuição para a defesa imunológica (DOSEDEL *et al.*, 2021).

Quanto à função antioxidante, o ácido ascórbico consegue reduzir espécies instáveis de oxigênio, nitrogênio e enxofre, e pode recuperar outras substâncias antioxidantes no metabolismo, tais como o alfa-tocoferol. Sabe-se, também, que a vitamina C está envolvida em retardar a peroxidação lipídica causada por peróxidos. Além disso, há o uso tópico da vitamina, que objetiva a neutralização das EROs na pele, são formadas através da exposição ao sol e à poluição (CARITÁ *et al.*, 2020).

O mecanismo envolvido na propriedade antioxidante consiste na doação de elétrons do ácido ascórbico, que é antioxidante (reductor), para um radical livre, que são moléculas oxidantes, tóxicas e reativas, como o ânion superóxido ( $O_2\cdot^-$ ). Esses radicais são formados de forma endógena, através da respiração celular e da inflamação, e também são gerados por meio de fatores exógenos, como a radiação ionizante, radiação UV, poluição e pelo consumo de cigarro (DEVAKI; RAVEENDRAN, 2017).

Estudos recentes apontam o papel do ácido ascórbico na reparação da cartilagem hialina, devido ao fato de que a vitamina C atua como uma coenzima da lisina hidroxilase, aumentando sua atividade, e diminuindo a da prolina hidroxilase, o que gera a amplificação da síntese de hidroxiprolina e hidroxilisina, essenciais para impulsionar as células cartilaginosas a sintetizar o colágeno, componente da matriz extracelular. Nesse sentido, os processos de manutenção do tecido conjuntivo, de formação óssea e de cicatrização são favorecidos (THERUVATH; MAHMOUD, 2021; ZHINGWEI, 2017).

Na via de síntese de catecolaminas, sabe-se que o ácido ascórbico atua como cofator para a enzima dopamina beta-hidroxilase, esta responsável pela conversão da dopamina e adrenalina, assim como demonstra modular atividade de receptores adrenérgicos, aumentando a ativação destes pela adrenalina. Também, a Vitamina C aumenta a formação da enzima tirosina hidroxilase, proporcionando aumento das quantidades de dopamina no organismo. Entende-se que a vitamina C possui papel essencial na produção dessas catecolaminas, o que é indispensável para o funcionamento da contração do coração, importante na regulação arterial (POURMAND; MAZER-AMIRSHAHI, 2018).

O ferro é um micronutriente essencial pois está envolvido no transporte de oxigênio mediante hemoglobina. Nos alimentos, 90% do ferro consumido encontra-se na forma não-heme, ou seja, na forma de complexos de  $Fe^{+3}$  (forma oxidada ou férrica). No entanto, o ferro não-heme é menos absorvido que o ferro heme. Nesse contexto, a vitamina C entra com o papel de aprimorar a absorção, promovendo a redução do  $Fe^{+3}$  em  $Fe^{+2}$  (forma reduzida ou ferrosa), que é absorvida e facilmente transportada pelos eritrócitos. Nesta conversão, o ácido ascórbico é oxidado para ácido desidroascórbico (PISKIN *et al.*, 2022; HAMZA, 2017).

Por fim, e não menos importante, vale destacar o papel do ácido ascórbico no sistema imunológico. Sua função compreende tanto o sistema imunológico inato

quanto o adaptativo. A Vitamina C é crucial para a integridade da barreira epitelial, o que é conferido pela síntese de colágeno; para a proteção oxidativa de neutrófilos e monócitos, e demonstra ser importante na quimiotaxia e fagocitose e para o bom funcionamento dos linfócitos, atuando na proteção antioxidante, proliferação e maturação. É evidente que o ácido ascórbico consegue sustentar uma resposta adequada contra antígenos, por isso seu uso tão amplamente difundido na prevenção e tratamento de infecções respiratórias e sistêmicas (CARR; MAGGINI, 2017).

#### **4.1.3 Vitamina C e suplementação em pacientes enfermos**

Vários estudos foram realizados com a administração da vitamina C e os efeitos em pacientes portadores de alguma enfermidade. Uma revisão analisou dezenove diferentes estudos sobre o uso do ácido ascórbico em pacientes com câncer. Em sete artigos, foi evidenciado que o uso do micronutriente auxiliou na sobrevivência dos pacientes. Foi encontrado também que em seis pesquisas, a administração da vitamina C gerou efeitos positivos durante o tratamento, no entanto a melhora clínica evidente foi observada em pacientes com leucemia mieloide aguda, que obtiveram resposta significativamente melhor em comparação com os pacientes que não receberam a suplementação. A revisão conclui que nem todos os casos de câncer vão responder positivamente e de maneira significativa ao uso da vitamina C, contudo a suplementação não oferece efeitos adversos graves e nem colaterais leves, o que sustenta que o seu uso é seguro (GORKOM *et al.*, 2019).

A lesão renal aguda (LRA) é causada por várias patologias, mas os radicais livres podem danificar biomoléculas, membranas e organelas do rim, assim como induzem a lesão e a inflamação de células tubulares renais. Antioxidantes endógenos reduzem o dano oxidativo, mas a suplementação com Vitamina C é importante para proteger o tecido renal frente a essas espécies reativas de oxigênio. O ácido ascórbico é interessante em pacientes portadores da lesão renal com disfunção endotelial, além de auxiliar na manutenção das enzimas hidroxilase e monooxigenase, preservando os vasos sanguíneos renais, portanto o uso da vitamina é bastante promissor em pacientes com LRA (DENNIS; WITTING, 2017).

#### **4.1.4 Suplementação da Vitamina C**

A recomendação dietética (RD) da Vitamina C, ou seja, a quantidade do nutriente recomendada para a ingestão, vem sendo estudada ao longo de muito tempo. A RD varia de acordo com vários parâmetros, um deles é com relação ao país, pois cada organização adota critérios diferentes para estimar essa quantidade. Por exemplo, nos Estados Unidos e Canadá, a RD de vitamina C é 90mg/dia para homens e 75 mg/dia para mulheres. Já na Itália, os valores aumentam: 105 mg/dia para homens e 85 mg/dia para mulheres. Outras variantes da RD são: idade, sexo tabagismo, gravidez e lactação (CERULLO *et al.*, 2020).

Estudos sugerem que as doses que objetivam profilaxia de infecções devem ser em torno de 100 a 200 mg/dia. Contudo, quando se fala de tratamentos de infecções já instaladas, a dose necessária pode chegar em gramas, pois há um aumento da atividade metabólica (CARR; MAGGINI, 2017).

#### **4.1.5 Toxicidade da suplementação da Vitamina C**

Mesmo que a vitamina C seja uma vitamina hidrofílica, em grandes quantidades este micronutriente pode oferecer certos riscos ao organismo. Uma dose de 5 a 10 g de ácido ascórbico pode desencadear diarreia osmótica e distensão abdominal com dor. Porém, a ingestão superior a 1g de vitamina C pode aumentar a probabilidade de formação de cálculos renais, pois o ácido ascórbico é metabolizado em oxalato, este que pode propiciar a formação desses cálculos (DOSEDEL *et al.*, 2021).

## 4.2 Validação analítica em indústria farmacêutica

A validação é um processo primordial que deve ser feito antes de autorizar a execução rotineira de um procedimento analítico dentro de uma indústria farmacêutica. Seu objetivo é fornecer evidências, a partir de dados gerados em ensaios experimentais, de que o método analítico é apropriado para a função que é atribuída (RDC 166; ICH Q2(R1)).

Segundo a RDC 658, de 30 de março de 2022, a qual dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos, reforça que a validação analítica deve estar presente na indústria farmacêutica, sendo uma atribuição do setor da produção e controle de qualidade a execução deste procedimento. Além disso, o documento oficial exige a documentação e registro de dados referentes à validação (RDC 658).

O presente trabalho refere-se a uma validação parcial de determinação de teor em comprimidos, contendo vitamina C, por método titulométrico. A metodologia deste procedimento está descrita em compêndio oficial, previamente validado, na Farmacopeia Brasileira 6ª edição. Portanto, pode ser feita uma validação parcial do processo, com o objetivo de avaliar as condições do laboratório que utilizará tal técnica rotineiramente. Avalia-se, pelo menos, a seletividade, precisão e exatidão na validação parcial. A validação total é exigida em métodos que não são descritos em compêndio oficial reconhecido pela ANVISA. (RDC 166).

### 4.3 Controle de qualidade do produto acabado em indústria farmacêutica

As Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF) é uma exigência destinada às indústrias farmacêuticas que envolve desde a fabricação de medicamentos experimentais até a descontinuação do produto no mercado, e que garante que a produção e controle destes produtos sejam realizados com qualidade (RDC 658).

O controle de qualidade, assim como a produção, faz parte das BPF. É encarregado pela coleta de amostras, realização de testes e pela liberação de um lote de medicamento para venda. Sua função é comprovar que o produto apresenta qualidade, confrontando valores experimentais com as especificações farmacopeicas (RDC 658).

Um dos testes indispensáveis para o controle de qualidade de formas farmacêuticas sólidas (comprimido) é o doseamento de insumo ativo, assegurando que os lotes de medicamentos fabricados possuam quantidades de insumo dentro do especificado, objetivando a administração do medicamento em dose correta, a eficácia e segurança ao paciente. O doseamento de ativo pode ser feito pela uniformidade de doses unitárias e pelo teor. Na uniformidade, dosa-se o componente ativo de cada unidade (comprimido) do lote. No teor, usa-se um *pool* de comprimidos, pulverizados, e dosa-se uma alíquota do pó, que possa equivaler a uma quantidade determinada de ativo, e os resultados (teórico e prático) são confrontados. No teor, pode-se aplicar a titulação, cromatografia líquida de alta eficiência ou espectrofotometria para doseamento (ANVISA, 2019).

A presente metodologia validada é destinada para o teste de teor, mas também seu uso é ampliado para o teste de uniformidade por peso, pois a faixa de trabalho utilizada na exatidão, conforme o documento ICH Q2 (R1), foi de 70% a 130%, que contempla a uniformidade. A faixa de trabalho para teor, segundo o ICH, é de 80% a 120%.

#### 4. 4 Princípio do método da titulação iodimétrica

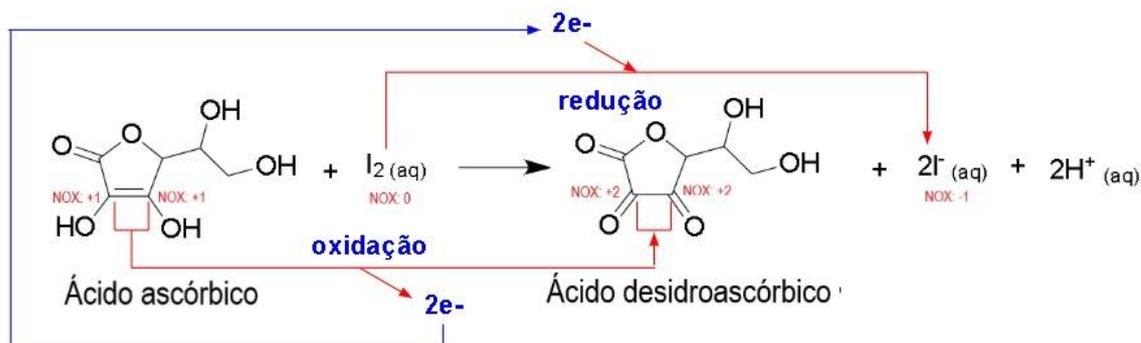
A Farmacopeia Brasileira 6ª edição, em suas monografias, define que o método para doseamento do teor de ácido ascórbico é realizado por meio da volumetria óxido-redução por iodimetria (ANVISA, 2019).

A titulação é uma técnica analítica rápida e de baixo custo. Baseia-se na adição de uma solução com concentração conhecida, presente na bureta, sobre uma solução contendo analito, em erlenmeyer, esta que é dosada quando há reação completa entre as duas soluções, e o final dessa reação é observado por mudança de coloração na presença de um indicador. Na titulação por óxido-redução, ocorrem semi-reações, em que uma substância é oxidada, ou seja, perde elétrons, e outra é reduzida, que ganha elétrons provenientes da oxidação (FABRICIO, 2018).

A iodometria, que é uma titulação “feita pelo resto”, compreende a oxidação dos íons iodeto, oriundos de uma solução contendo iodeto de potássio, por um analito oxidante, produzindo iodo molecular. Em seguida, esta solução contendo iodo molecular é titulada com a solução padronizada de tiosulfato de sódio, que é um agente redutor. O indicador é o amido, adicionado perto do ponto de viragem da titulação. Pode ser utilizado para dosear fármacos oxidantes. Já na iodimetria, o amido está presente desde o início da titulação, e a solução oxidante padronizada é o iodo ( $I_2$  0,05 M), que será reduzido por um analito redutor, que no presente trabalho foi o ácido ascórbico. Neste caso, o ponto de viragem é observado quando a solução no erlenmeyer atinge a cor azul escuro (FUKUSHIMA *et al.*, 2018).

Conforme a metodologia presente na Farmacopeia Brasileira 6ª edição, a titulação trabalhada consiste na iodimetria, tendo o ácido ascórbico como agente redutor, e o iodo molecular ( $I_2$ ), solução de coloração marrom, como agente oxidante (ANVISA, 2019). A reação gera o ácido desidroascórbico, que é a forma oxidada do ácido ascórbico, e o íon iodeto ( $I^-$ ). O amido é adicionado antes da titulação no erlenmeyer contendo analito presente em meio aquoso e ácido (BUENO *et al.*, 2019). A reação detalhada encontra-se na figura 2:

Figura 2 - Reação de óxido-redução do ácido ascórbico com iodo molecular.



Fonte: Elaborado pelo Autor

O ácido sulfúrico, dentro desta reação, tem como finalidade conferir estabilidade à molécula de ácido ascórbico, evitando sua oxidação por outros interferentes que não sejam o iodo molecular. Portanto, a cor que aparece na titulação torna-se mais estável com a adição do ácido, evitando resultados equivocados, garantindo que todo o ácido ascórbico presente seja oxidado pelo iodo, e não por outro elemento. (NGIBAD *et al.*, 2019)

Após o consumo do ácido ascórbico pelo iodo molecular, as moléculas de I<sub>2</sub> podem reagir com os iodetos formados na reação, o que leva à formação de poliiodetos como o I<sub>3</sub><sup>-</sup>. Esta espécie consegue se inserir na estrutura helicoidal do amido, formando um complexo de inclusão que confere à solução uma cor azul intensa. (UFJF, 2019)

## **5. METODOLOGIA**

O presente trabalho foi realizado dentro dos laboratórios de Pesquisa e Desenvolvimento e de Controle de Qualidade do Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes (LAFEPE), dispondo de todos os reagentes e equipamentos necessários para a execução da validação. A técnica da análise é a titulometria.

### **5.1 Preparo das soluções**

A metodologia do preparo das soluções reagentes descritas obedeceu os procedimentos contidos na Farmacopeia Brasileira 6ª edição.

#### **5. 1. 1 Solução de amido SI 2% (m/v)**

Foram pesados 2g de amido p.a e transferidos para béquer de 100 mL, os quais foram dissolvidos com cerca de 15 mL de água quente. Esta solução foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Em seguida, adicionou-se mais água quente a fim de completar o volume equivalente a 100 mL. A solução final deve apresentar pequena opalescência.

#### **5. 1. 2 Solução de ácido sulfúrico 1M**

Foram adicionados 800 mL de água em balão volumétrico de 1000 mL. Em seguida, foram acrescentados 54 mL de ácido sulfúrico cuidadosamente. A solução foi homogeneizada, e após resfriada, o volume do balão foi completado com água.

### **5. 2 Procedimento da titulação**

Foram pesados 200 mg de ácido ascórbico e 180 mg de placebo, que contém os seguintes excipientes: estearato de magnésio, Klucel, croscarmelose sódica, dióxido de silício coloidal e celulose M 102. O ácido ascórbico e o placebo foram transferidos para erlenmeyer, no qual foram adicionados 100 mL de água, 25 mL de solução de ácido sulfúrico 1M e 3 mL de solução de amido SI 2% (m/v). Realizou-se a titulação imediata com iodo 0,05 M SV, solução que foi adicionada à uma bureta calibrada.

### 5. 2. 1 Escolha da massa pesada de ácido ascórbico

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª edição, o procedimento da titulação é realizado com a quantidade de pó, dos vinte comprimidos triturados, equivalente a 200 mg de ácido ascórbico. O peso médio do comprimido revestido contendo Vitamina C 500 mg, fabricado no LAFEPE, é 950 mg. Então, para a realização do método, deve-se pesar 380 mg do pó de comprimidos triturados, que contém 200 mg da substância ativa. Na presente validação, simula-se esta dosagem pesando diretamente 200 mg de ácido ascórbico e 180 mg de placebo. Não convém usar o produto acabado pois não há a certeza de que o comprimido possui a quantidade exata do ativo. É necessário provar que o método é exato, utilizando quantidades conhecidas da substância ativa.

## 5. 3 Parâmetros avaliados para a validação da metodologia

### 5. 3. 1 Seletividade

A seletividade demonstra se o método consegue identificar o analito de maneira inequívoca na presença de outros componentes. (ICH Q2 (R1) Para o teste de seletividade, três titulações foram realizadas conforme a tabela 1:

Tabela 1 - Metodologia para o teste de seletividade.

Solução	Constituição
Solução Reagente	100 mL de H <sub>2</sub> O + 25 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 3 mL de amido SI
Solução Reagente + Placebo	100 mL de H <sub>2</sub> O + 25 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 3 mL de Amido + 380 mg de Placebo
Solução Reagente + Placebo + Ácido ascórbico	100 mL de H <sub>2</sub> O + 25 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 3 mL de Amido + 180 mg de Placebo + 200 mg de Ácido Ascórbico

A seletividade objetiva averiguar se há reação entre a solução contendo iodo molecular e os outros componentes presentes na solução titulada, que não seja o ácido ascórbico.

### 5. 3. 2 Precisão

A precisão é um parâmetro da validação analítica que investiga o grau de concordância entre os valores medidos provenientes de uma amostragem múltipla

da mesma amostra. Os níveis avaliados para a precisão nesta validação são: repetibilidade e reprodutibilidade (ICH Q2 (R1)).

Para a repetibilidade, são verificadas 6 replicatas a 100% (200 mg de Ácido Ascórbico e 180 mg de Placebo), individualmente preparadas sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação, no mesmo laboratório (Pesquisa & Desenvolvimento).

Na reprodutibilidade, a avaliação é feita por meio da proximidade dos resultados obtidos em laboratórios diferentes no LAFEPE (Pesquisa & Desenvolvimento e Controle de Qualidade), cada laboratório com seis determinações a 100% da concentração do teste, com análises realizadas em dias diferentes e com analistas diferentes.

### 5. 3. 3 Exatidão

A exatidão expressa o grau de concordância entre os valores obtidos da análise com o valor de referência, aceito como verdadeiro (ICH Q2 (R1)).

A análise é feita considerando as seguintes concentrações em triplicata: 140 mg (70%), 200 mg (100%) e 260 mg (130%) para o ácido ascórbico. Os níveis foram definidos pelo documento ICH Q2 (R1). As amostras para avaliação da exatidão devem ser preparadas de maneira independente, como mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Metodologia para o teste de exatidão.

Nível	Concentração	Massa de Ácido Ascórbico	Placebo	Erlenmeyer
	(%)	(mg)	(mg)	1. H <sub>2</sub> O / 2. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Baixo	70%	140	240	1. 100 mL/2. 25 mL
Médio	100%	200	180	1. 100 mL/2. 25 mL
Alto	130%	260	120	1. 100 mL/2. 25 mL

## 5. 4 Tratamento estatístico

### 5. 4. 1 Precisão

De acordo com a legislação vigente, os resultados da precisão devem ser expressos através do desvio padrão relativo, conforme a equação: **DPR = (DP/CMD) x 100**, onde: DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada, que devem ser calculados com os valores obtidos.

O valor máximo aceitável deve ser determinado por meio da equação de Horwitz (figura 3). Também, a reprodutibilidade é avaliada pelo teste T, que é usado para comparar médias de dois grupos, onde o T calculado deve ser menor que o T tabelado para aprovar; e pelo teste F, que analisa a homogeneidade das variâncias dos dois grupos.

Figura 3 - Equação de Horwitz  
$$CV = 2(1 - 0,5 \log C)$$

#### **5. 4. 2 Exatidão**

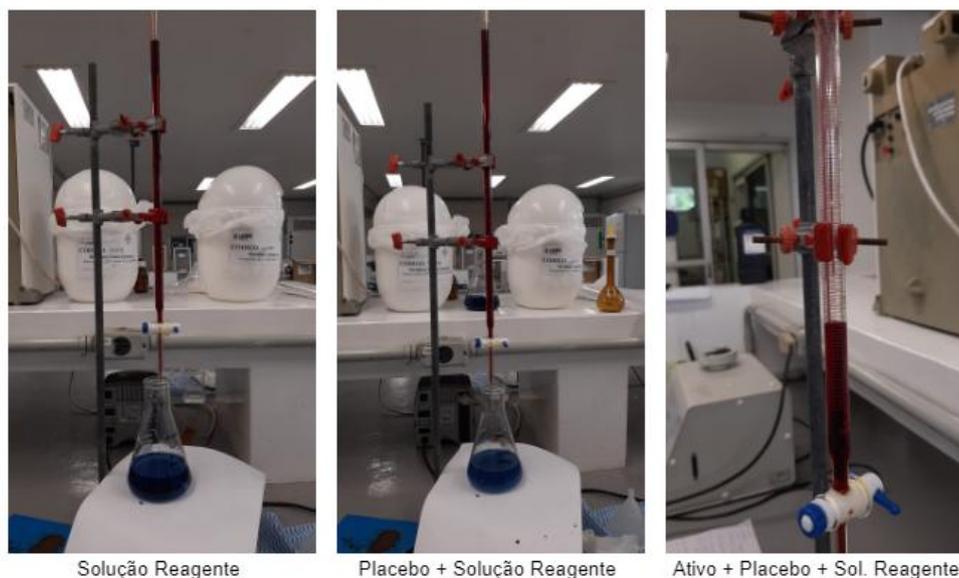
Para a exatidão, em cada nível, devem ser calculados a média, o desvio padrão e o desvio padrão relativo. O valor máximo aceitável é determinado pela equação de Horwitz, e o critério de aceitação para a média de recuperação em cada nível foi determinado pela ICH Q2 (R1).

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Seletividade

A seletividade foi comprovada por meio dos valores obtidos na titulação com a amostra de ácido ascórbico a 100% (200 mg) com placebo, com a solução contendo placebo e com a solução reagente. O resultado foi de 22,9 mL para a amostra a 100%, de 1 gota para solução reagente com placebo e de 1 gota, também, para solução reagente, contendo apenas amido, ácido sulfúrico e água. Portanto, pode-se comprovar que o método é seletivo, que detecta o ativo e não outro interferente. Segue as imagens da seletividade (Figura 4):

Figura 4 - Seletividade.



### 6.2 Precisão

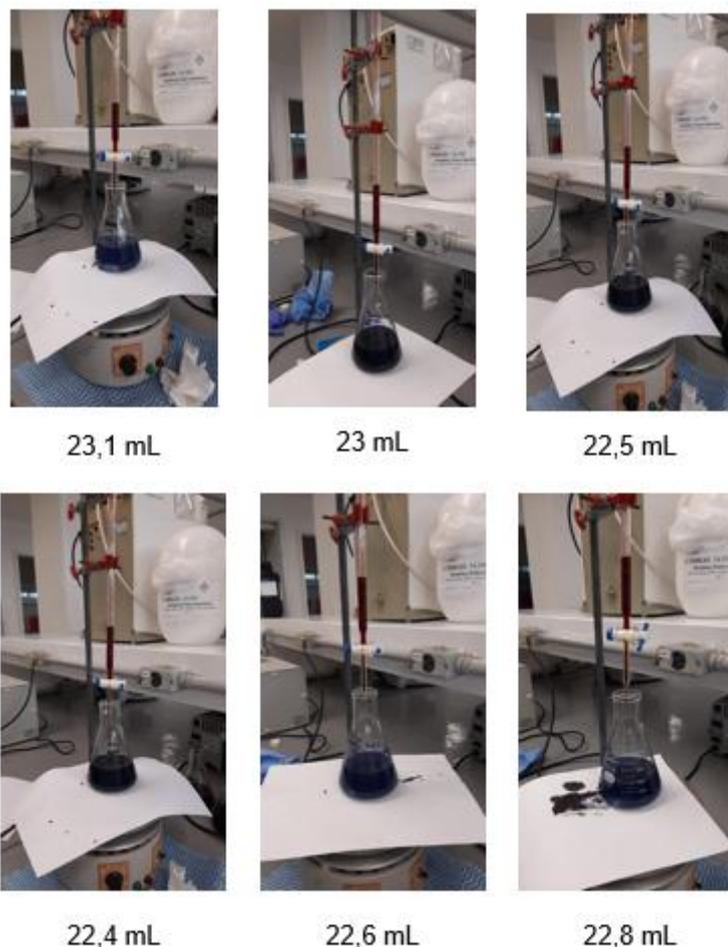
#### 6.2.1 Pesquisa & Desenvolvimento

A repetibilidade foi determinada utilizando-se seis amostras de ácido ascórbico a 100% com placebo, sob as mesmas condições de teste, em um curto intervalo de tempo e preparadas pelo mesmo analista, no laboratório do setor de Pesquisa & Desenvolvimento (COPED). Na tabela 3 seguem os resultados da repetibilidade e na Figura 5, as fotos obtidas nas titulações.

Tabela 3 - Resultados da repetibilidade.

Repetibilidade	Volume gasto (mL)	Massa da Amostra (mg)	%
Amostra 001	23,10	203,42	101,71
Amostra 002	23,00	202,54	101,27
Amostra 003	22,50	198,14	99,07
Amostra 004	22,40	197,25	98,63
Amostra 005	22,60	199,02	99,51
Amostra 006	22,80	200,78	100,39
Média	22,73	200,19	100,09
Desvio Padrão	0,28	2,47	1,23
<b>DPR%</b>	<b>1,23</b>	<b>1,23</b>	<b>1,23</b>
<b>DPR% aceitável</b>	<b>1,33</b>	<b>1,33</b>	<b>1,33</b>
Mínimo	22,40	197,25	98,63
Máximo	23,10	203,42	101,71

Figura 5 - Repetibilidade.



Observa-se que a Repetibilidade atende às especificações para doseamento das soluções contendo amostra de ácido ascórbico a 100%, visto que apresentou o

coeficiente de variação (DPR%) de 1,23%, sendo inferior DPR% aceitável de 1,33%, conforme regulamentação da instituição que dispõe sobre validação analítica e parâmetros estatísticos, com 95% de confiança.

### 6.2.2 Controle de Qualidade

No laboratório de controle de qualidade, utilizou-se 6 amostras com outro analista, sob as mesmas condições, em dias diferentes. Na tabela 4 e 5, seguem os resultados da reprodutibilidade, que trata os dados dos dois laboratórios, e do teste t Student e teste F, respectivamente, e na Figura 6 as fotos obtidas nas titulações.

Tabela 4 - Resultado da Reprodutibilidade.

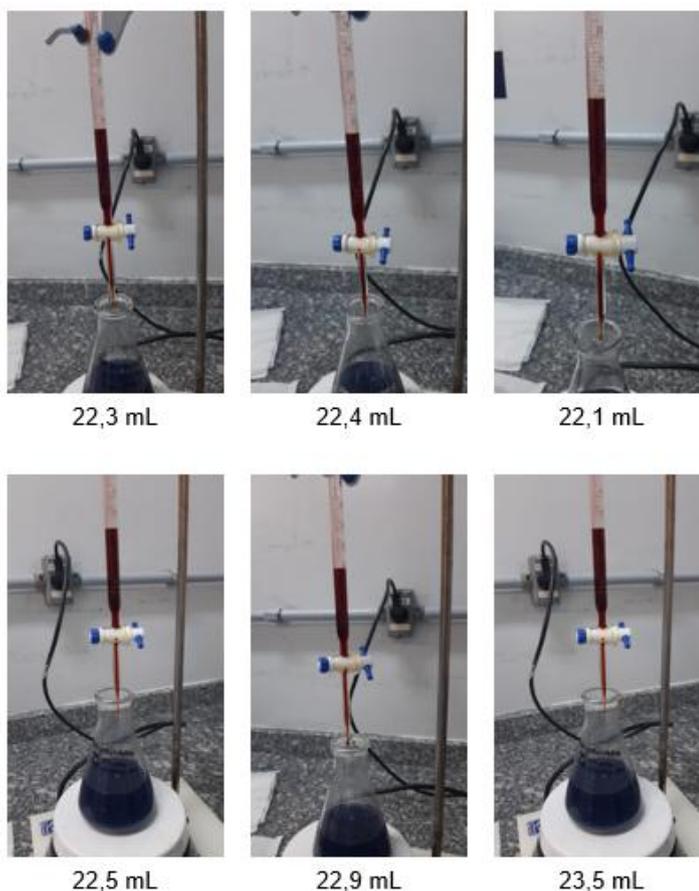
COPED	Volume gasto (mL)	Massa da Amostra (mg)	%	COQUA	Volume gasto (mL)	Massa da Amostra (mg)	%
Amostra 001	23,10	203,42	101,71	Amostra 001	22,3	196,37	98,19
Amostra 002	23,00	202,54	101,27	Amostra 002	22,4	197,25	98,63
Amostra 003	22,50	198,14	99,07	Amostra 003	22,1	194,61	97,31
Amostra 004	22,40	197,25	98,63	Amostra 004	22,5	198,14	99,07
Amostra 005	22,60	199,02	99,51	Amostra 005	22,5	198,14	99,07
Amostra 006	22,80	200,78	100,39	Amostra 006	22,9	201,66	100,83
Média	22,73	200,19	100,10	Média	22,45	197,69	98,85
Desvio Padrão	0,28	2,47	1,23	Desvio Padrão	0,27	2,35	1,17
<b>DPR%</b>	<b>1,23</b>	<b>1,23</b>	<b>1,23</b>	<b>DPR%</b>	<b>1,19</b>	<b>1,19</b>	<b>1,19</b>
<b>DPR% aceitável</b>	<b>1,33</b>	<b>1,33</b>	<b>1,33</b>	<b>DPR% aceitável</b>	<b>1,33</b>	<b>1,33</b>	<b>1,33</b>
Mínimo	22,40	197,25	98,63	Mínimo	22,10	194,61	97,31
Máximo	23,10	203,42	101,71	Máximo	22,90	201,66	100,83
<b>DPR% ANALISTA 1 + ANALISTA 2</b>			<b>1,33</b>				
<b>DPR% ACEITÁVEL (12 AMOSTRAS)</b>			<b>2,00</b>				

Tabela 5 - Resultado do Teste t *Student*.

	<b>COPED</b>	<b>COQUA</b>
Média	200,19	197,69
DPR (%)	1,23	1,19
<b>Valor F</b>	<b>1,1080</b>	
<b>F crítico</b>	<b>5,0503</b>	
<b>Valor de T</b>	<b>1,7940</b>	
<b>T Crítico</b>	<b>2,2281</b>	

Foi verificado que o coeficiente de variação (DPR%) aceitável era de 1,33% para as 6 amostras e de 2,00% para as 12 amostras e os valores encontrados foram inferiores aos requisitados: Repetibilidade = 1,23%; Reprodutibilidade = 1,19% e para o total das 12 amostras avaliadas foi de 1,33%. Após aplicação do teste t Student, o t calculado foi de 1,7940; valor inferior ao t tabelado de 2,2281; com 95% de confiança. Com a aplicação do teste F, o F calculado foi de 1,1080; valor inferior ao F tabelado de 5,0503, com 95% de confiança.

Figura 6 - Reprodutibilidade.



Portanto, pode-se concluir que o método foi preciso para metodologia de doseamento do produto acabado vitamina C por titulometria.

### 6. 3 Exatidão

O parâmetro da exatidão foi conduzido com o preparo de soluções, considerando as seguintes concentrações do ativo ácido ascórbico em triplicata: 70%, 100% e 130%. Foi avaliada a capacidade de recuperação para cada concentração de 98 a 102% do valor teórico. O cálculo do DPR% aceitável foi obtido conforme indicado na regulamentação interna da instituição para cada concentração de ácido ascórbico: para 70% o DPR% aceitável é de 1,41%; para 100% o DPR% aceitável é de 1,33% e para 130% o DPR% aceitável é de 1,28%. Os resultados estão registrados na tabela 6 e as fotos das titulações na Figura 7.

Tabela 6 - Resultado da Exatidão.

Massa da Amostra (mg)				Recuperação (%)			
Amostra	70%	100%	130%	Amostra	70%	100%	130%
1	137,37	198,14	255,37	1	98,00	99,00	98,00
2	140,02	197,25	259,78	2	100,00	99,00	100,00
3	137,37	195,49	254,49	3	98,00	98,00	98,00
Média	138,25	196,96	256,55	Média	98,67	98,67	98,67
<b>DPR%</b>	<b>1,103</b>	<b>0,683</b>	<b>1,103</b>	L. Rec. inf (%)	98	98	98
<b>DPR% Ac</b>	<b>1,41</b>	<b>1,33</b>	<b>1,28</b>	L. Rec. Sup (%)	102	102	102
Mínimo	137,37	195,49	254,49	Mínimo	98	98	98
Máximo	140,02	198,14	259,78	Máximo	100	99	100

Figura 7 - Exatidão



Exatidão 70%: 15,8 mL



Exatidão 70%: 15,9 mL



Exatidão 70%: 15,6 mL



Exatidão 100%: 22,8 mL



Exatidão 100%: 22,4 mL



Exatidão 100%: 22,2 mL



Exatidão 130%: 29 mL



Exatidão 130%: 29,5 mL



Exatidão 130 %: 28,9 mL

Pode-se comprovar que a capacidade de recuperação é confirmada com os resultados expostos na tabela 6.

## 8. CONCLUSÃO

A Vitamina C é um micronutriente vital para várias funções do organismo, atuando na mimetização do sistema imunológico, na síntese de colágeno e na proteção contra espécies oxidantes e danosas ao corpo humano. Por isso, esse composto é muito utilizado como um suplemento alimentar. A validação parcial do método titulométrico para doseamento do produto acabado Vitamina C 500 mg foi feita baseando-se no documento ICH Q2 (R1). O princípio do método consiste na iodimetria, utilizando a solução padronizada de iodo molecular 0,05 M, que é oxidante, e o analito redutor a ser dosado, que é o ácido ascórbico, com solução indicadora o amido 2% (m/v). Foram avaliados os parâmetros da seletividade; precisão, nos níveis de repetibilidade e reprodutibilidade; e exatidão, com tratamento estatístico. O método em discussão foi considerado seletivo, pois para a solução contendo ativo observou-se consumo de 22,9 mL de Iodo 0,05 M, diferente do que é visto nas soluções sem ativo, com consumo de apenas uma gota. Foi considerado preciso, pois na repetibilidade, o DPR% calculado (1,23) foi menor que o DPR% aceitável (1,33). Na reprodutibilidade, os DPR% calculados (COPED = 1,23; COQUA = 1,19; Dois grupos = 1,33) foi menor que os DPR% aceitáveis (1,33 para cada laboratório e 2 para os dois grupos). O valor de F (1,108) foi menor que F crítico (5,0503), confirmando que as variâncias entre dois grupos são estatisticamente semelhantes. O valor de T (1,7940) também foi menor que o T crítico (2,2281), evidenciando a homogeneidade das médias dos dois grupos. A metodologia foi considerada exata, pois os DPR% calculado de cada nível (70% = 1,103; 100% = 0,683; 130% = 1,103) foram menores que os DPR% aceitáveis (70% = 1,41; 100% = 1,33; 130% = 1,28). Conforme o documento supracitado, a metodologia para doseamento do produto acabado Vitamina C 500 mg está apto a ser realizado na rotina da indústria para fins de controle de qualidade.

## 9. REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, 6ª ed., 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 243, de 26 de julho de 2018, dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 de jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 658, de 30 de março de 2022, dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 de mar. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 de jul. 2017.

BUENO, D. M. de A. *et al.* Determinação da vitamina C em suco de laranja: uma proposta experimental investigativa para aplicação no ensino de química. **Revista Brasileira de Ensino de Ciência e Tecnologia**, [S.L.], v. 12, n. 3, 2019.

CARITÁ, A. C. *et al.* Vitamin C: one compound, several uses. advances for delivery, efficiency and stability. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, [S.L.], v. 24, p. 102117, 2020.

CARR, A.; MAGGINI, S. Vitamin C and Immune Function. **Nutrients**, [S.L.], v. 9, n. 11, p. 1211, 2017.

CAVALARI, T. GF; SANCHES, R. A. Os efeitos da Vitamina C. **Revista saúde em foco**, p. 749-765, 2018.

CERULLO, G. *et al.* The Long History of Vitamin C: from prevention of the common cold to potential aid in the treatment of covid-19. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 11, 2020.

CUTRIM, F. M. *et al.* **A EXPERIMENTAÇÃO NO ENSINO DE QUÍMICA: POR UMA ABORDAGEM PROBLEMATIZADORA**. São Luís: Editora Ifma, 2019.

DENNIS, J. *et al.* Protective Role for Antioxidants in Acute Kidney Disease. **Nutrients**, [S.L.], v. 9, n. 7, p. 718, 2017.

DEVAKI, S. J. *et al.* Vitamin C: sources, functions, sensing and analysis. **Vitamin C**, [S.L.], 2017.

DOSEDĚL, M, *et al.* Vitamin C—Sources, Physiological Role, Kinetics, Deficiency, Use, Toxicity, and Determination. **Nutrients**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 615, 2021.

FANG, Z. Métodos analíticos para la determinación de vitamina C en alimentos. 2017.

FUKUSHIMA, A. R. *et al.* Análise multifatorial de métodos volumétricos para a quantificação de ácido ascórbico em comprimidos efervescentes. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, [S.L.], v. 11, n. 3, 2018.

HAMZA, A. H.. **Vitamin C**. Rijeka: Intechopen, 2017. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=-PyPDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA23&dq=vitamin+c+and+iron+absorption&ots=rQd8yQRnXB&sig=xaTYbG15AUckbAl6KCFCS9uWr64#v=onepage&q=vitamin%20c%20and%20iron%20absorption&f=false>. Acesso em: 20 set. 2022.

ICH. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH - Q2(R1) Validation of analytical procedures: text and methodology, 1995.

JUNIOR, E. J. A. G. *et al.* Validação de Método Analítico para a Quantificação de Paracetamol em Solução Oral por Espectrofotometria no UV. **Revista Virtual de Química**, Taquaritinga (Df), v. 9, n. 4, p. 1747-1759, 2017.

KOCOT, J. *et al.* Does Vitamin C Influence Neurodegenerative Diseases and Psychiatric Disorders? **Nutrients**, [S.L.], v. 9, n. 7, p. 659, 2017.

LAURINDO, A. A. *et al.* Hábitos de consumo de suplemento de vitamina C durante a pandemia do COVID-19: benefícios, riscos e o papel da assistência farmacêutica no uso racional. **Revista Brasileira de Ciências Biomédicas**, [S.L.], v. 2, n. 1, 2021.

NGIBAD, K. *et al.* EFFECT OF STARCH AND SULFURIC ACID ON DETERMINATION OF VITAMIN C IN PAPAYA FRUIT USING IODIMETRI. **Indonesian Journal Of Medical Laboratory Science And Technology**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 15-21, 2019.

PISKIN, E. *et al.* Iron Absorption: Factors, Limitations, and Improvement Methods. **ACS omega**, v. 7, n. 24, p. 20441-20456, 2022.

SANTOS, J. T. *et al.* Os efeitos da Suplementação com Vitamina c. **Revista Conhecimento Online**, v. 1, p. 139-163, 2019.

STRELLER, Sabine. Is it an Acid or Not? – The Puzzle of the Structure of Vitamin C. **Chemkon**, [S.L.], v. 29, n. 2, p. 64-71, 20 out. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ckon.202000027>.

TENG, J. *et al.* Vitamin C: the next step in sepsis management?. **Journal Of Critical Care**, [S.L.], v. 43, p. 230-234, 2018.

THERUVATH, A. J. *et al.* Ascorbic Acid and Iron Supplement Treatment Improves Stem Cell-Mediated Cartilage Regeneration in a Minipig Model. **The American Journal Of Sports Medicine**, [S.L.], v. 49, n. 7, p. 1861-1870, 2021.

Universidade Federal de Juiz de Fora. **LABORATÓRIO de TRANSFORMAÇÕES em QUÍMICA**. Juiz de Fora, 2019.

VAN GORKOM, G. N. *et al.* The Effect of Vitamin C (Ascorbic Acid) in the Treatment of Patients with Cancer: a systematic review. **Nutrients**, [S.L.], v. 11, n. 5, p. 977, 2019.