

DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C EM COLÁGENO HIDROLISADO EM DIFERENTES MARCAS DISPONÍVEIS NO MERCADO

SILVA, Bruna
MARQUES, Sabrina

RESUMO

Produtos à base de Vitamina C vem sendo cada vez mais procurados por via comercial devido suas características de antienvelhecimento (CAYE, sem data), porém, é necessário desenvolver produtos realmente eficazes e é indispensável realizar testes que comprovem esta eficácia. Por tal motivo, os ensaios experimentais norteiam os objetivos de controle da qualidade e avaliação da estabilidade. Os testes realizados foram de identificação da Vitamina C nas amostras, peso médio e titulação de três tipos de colágeno disponíveis no mercado. Outro teste que é de suma importância que também foi realizado é o de determinação do teor de Vitamina C em cada uma das amostras, o que revelou valores, alterados entre leve e alto, confirmando a necessidade de repetir os testes e realizar um tratamento de dados estatísticos a fim de se compreender os resultados que também podem ser devidos a possíveis erros analíticos, já que devido aos excipientes foi difícil detectar o ponto de viragem das análises. A metodologia utilizada foi da Farmacopeia, do Guia de Análises de Cosméticos da ANVISA e artigos científicos.

Palavras-chave: Colágeno hidrolisado; Colágeno Verisol; Colágeno Q10; Vitamina C; Suplementos; Testes Qualitativos.

ABSTRACT

Products based on Vitamin C have been increasingly sought after commercially due to their anti-aging properties (CAYE, n.d.). However, it is necessary to develop truly effective products, and as a researcher, knowing how to search for and conduct tests that prove this effectiveness is essential. For this reason, experimental trials guide the objectives of quality control and stability assessment. The tests conducted included the identification of Vitamin C in the samples, average weight, and titration. Another test of utmost importance that was also carried out is the determination of the Vitamin C content in each sample, which revealed varying levels from slight to high, confirming the need to repeat the tests. Additionally, statistical data analysis was performed, revealing results above the expected values, which may be related to analytical errors, as it was difficult to detect the turning point of the analyses due to the excipients.

Keywords: Hydrolyzed collagen; Verisol collagen; Q10 collagen; Vitamin C; Supplements; Qualitative tests.

1. **Introdução**

A vitamina C, também conhecida como ácido ascórbico, é um nutriente essencial presente em frutas, vegetais, tecidos animais e diversos outros produtos (HOEHNE & MARMITT, 2019). Suas formas dietéticas mais comuns incluem o ácido L-ascórbico e o ácido dehidroascórbico, ambos hidrossolúveis, ou seja, solúveis em água. Essa vitamina desempenha um papel crucial em várias funções biológicas, principalmente devido à sua capacidade antioxidante, que protege biomoléculas como lipídios, açúcares, proteínas e até ácidos nucleicos da ação dos radicais livres. Esses radicais são gerados tanto pelo metabolismo interno quanto por fatores externos, como exposição ao sol, poluição e substâncias presentes no cigarro (SANTOS, *et al.*, 2019).

A deficiência de vitamina C pode levar ao desenvolvimento de escorbuto, uma condição caracterizada por manifestações hemorrágicas, como petéquias, equimoses, sangramentos gengivais, além de fadiga, tontura e anorexia. Por isso, a suplementação dessa vitamina é indicada em certos casos, como infecções, gravidez, amamentação e tabagismo, já que a dieta sozinha pode não fornecer níveis adequados. A ingestão diária recomendada é de 1000 mg (MANELA-AZULAY, *et al.*, 2003).

Estudos sugerem que a vitamina C tem potencial na prevenção do câncer, apresentando atividade tóxica contra células tumorais e até induzindo apoptose em células leucêmicas (HAZA, *et al.*, 2009); (BRAM, 1980). No entanto, doses excessivas podem ter efeito pró-oxidante, o que pode estar associado a doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e autoimunes (VELLOSA, *et al.*, 2013); (SANTOS, *et al.*, 2019).

Além de seu papel antioxidante, a vitamina C é essencial para a síntese de colágeno, uma proteína estrutural encontrada em tecidos como ossos, tendões, cartilagens, veias, pele e músculos (CARVALHO, 2019). O colágeno é formado a partir de aminoácidos, como glicina, prolina e lisina, sendo que a vitamina C atua como cofator na conversão de prolina e lisina em hidroxiprolina e hidroxilisina, essenciais para a formação de fibras colágenas (PUJOL, 2011).

Na cosmetologia, a vitamina C é amplamente utilizada por seu papel na renovação do colágeno, ajudando a reduzir os sinais de envelhecimento cutâneo. A

estabilização do ácido ascórbico é fundamental nas formulações cosméticas, dada sua instabilidade térmica. Tecnologias como lipossomas e nanotecnologia são empregadas para melhorar a permeação cutânea e a eficácia dos produtos (RIBEIRO, C. 2006).

O controle de qualidade (CQ) é essencial para garantir a segurança e a eficácia de suplementos alimentares que contenham vitamina C e colágeno. A RDC 243/18, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regula a fabricação e comercialização desses produtos no Brasil, exigindo que os fabricantes garantam a segurança, qualidade e eficácia dos suplementos alimentares, além de atender às exigências de rotulagem e estabilidade do produto.

A suplementação de colágeno hidrolisado tem mostrado benefícios, como o aumento de colágeno tipo I e IV na pele e a melhoria da elasticidade cutânea, conforme demonstrado em estudos com grupos suplementados (ZAGUE, *et al.* 2011); (PROKSCH, *et al.*, 2014).

Em suma, a vitamina C, além de ser essencial para o organismo humano, desempenha um papel fundamental na síntese de colágeno e na proteção contra danos oxidativos, sendo amplamente estudada e utilizada tanto em suplementos quanto em cosméticos. O controle rigoroso de qualidade garante que esses produtos atendam às expectativas e necessidades dos consumidores.

2. Justificativa

Medicamentos, produtos cosméticos e suplementos devem ter sua eficácia e integralidade garantidas pelas indústrias que os produzem. O consumo de colágeno hidrolisado para atenuação do envelhecimento cutâneo está sendo muito discutido ultimamente em vista das novas tecnologias de obtenção. A vitamina C faz parte da síntese do colágeno que é mais restrita de maneira intrínseca e extrínseca no indivíduo. Os suplementos e produtos envolvendo colágeno hidrolisados muitas vezes utilizam a vitamina C a fim de assim complementar esse benefício.

O estudo da quantificação da vitamina C em colágeno hidrolisado justifica-se uma vez que é importante que as indústrias que descrevem a quantidade rotulada desta substância garantam sua quantidade e, portanto, eficácia do produto em vista da legislação vigente.

3. **Objetivo**

O objetivo deste artigo é conhecer a concentração de vitamina C, em suplementos alimentares de colágeno hidrolisado em diferentes marcas disponíveis no mercado. O trabalho tem como objetivo realizar testes de controle de qualidade tais como peso médio e identificação de colágeno nas amostras dos produtos de venda comercial, utilizando as normativas exigidas pela ANVISA para caracterizá-los.

4. **Metodologia.**

Os procedimentos metodológicos que foram adotados utilizaram três amostras de suplementos alimentares de diferentes marcas, são elas: Colágeno+Q10 hidrolisado em sachê de 5g da marca Maxinutri, Colágeno tipo 2 Osteo Repair em cápsulas da marca Under Labz, e colágeno Feme hidrolisado em comprimidos de 1g da marca Nitro Max, disponíveis via internet que são à base de Vitamina C. A compra dessas amostras seguiu o padrão em forma de sachê, cápsulas e comprimidos, com quantidade suficiente para elaboração dos testes.

Preparação das soluções específicas, e fundamentais para o ensaio de titulação: **Solução de Ácido Sulfúrico 2N:** Misturaram-se 30 ml de ácido sulfúrico concentrado, utilizada para ajustar o meio reacional. **Solução Indicadora de Amido:** Para preparar essa solução, misturaram-se 30 ml de água destilada com 1 g de amido P.A. A mistura foi transferida para um balão volumétrico de 100 ml e o volume foi ajustado até o menisco. Essa solução age como indicador na titulação, revelando a mudança de cor quando todo o iodo foi consumido, conforme descrito por (MORITA, T. e ASSUMPÇÃO, R. M. V. *et al.*, 2007). **Solução Titulante de Iodo 0,1N:** A solução de iodo foi preparada dissolvendo-se 36 g de iodeto de potássio (KI) em 100 ml de água destilada, seguida pela adição de 12,75 g de iodo puro. A mistura foi transferida para um balão volumétrico de 1 litro, completando-se o volume com água. Segundo (AQUINO, J. S., *et al.*, 2011), cada 1 ml dessa solução equivale a 8,806 mg de vitamina C. Além dessas soluções, foi preparado o **reagente de Biureto** para a detecção de proteínas. A solução foi obtida dissolvendo 0,15 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 0,60 g de tartarato duplo de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) em 50 ml de água destilada. Em seguida, adicionou-se 30 ml de solução de NaOH a 10%, sob agitação constante, e posteriormente, 0,1 g de iodeto de potássio (KI). A mistura final foi

transferida para um balão volumétrico de 100 ml, onde o volume foi completado com água destilada. Essas soluções permitiram a realização dos testes de titulação de forma precisa e acessível, oferecendo um método eficiente para a determinação da vitamina C em suplementos à base de colágeno (Figura 1).



Figura 1: Amostras de Suplementos selecionados para os testes.

5. Resultados e Discussão

Segundo a RDC nº 301/2019 que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, faz menção ao controle de qualidade de produtos farmacêuticos, incluindo o teste de uniformidade de conteúdo e de peso. Portanto, realizar a verificação do peso médio é uma exigência regulamentar e uma prática essencial para a qualidade e segurança de produtos farmacêuticos e suplementos alimentares validado na RDC nº 166/2017. O teste de peso médio é importante para um controle de qualidade e conformidade regulatória, uniformidade de dose, detecção de variações de formulação e segurança do consumidor. Os resultados estão ilustrados na Tabela 1 e os valores se dividem entre sachê, capsula e comprimido, a pesagem foi realizada separando 20 amostras de cada produto, em uma balança analítica tarada, após acrescentar uma amostra o valor obtido foi anotado, em seguida a tara da balança novamente e assim sucessivamente até finalizar um produto e a realização da limpeza da balança para seguir a pesagem do próximo produto.

Tabela 1: Peso médio dos diversos tipos de colágeno utilizados como amostras

Peso Médio			
Amostras Valor em g	Verisol	Osteo	Feme Tablet
	Sachê embalagem	com Cápsula Conteúdo em pó	Comprimido triturado
1	6,495	0,760	1,195
2	6,541	0,717	1,133
3	6,483	0,718	1,201
4	6,551	0,759	1,133
5	6,571	0,775	1,151
6	6,500	0,728	1,193
7	6,469	0,717	1,149
8	6,504	0,741	1,127
9	6,546	0,728	1,207
10	6,508	0,711	1,166
11	6,516	0,752	1,122
12	6,548	0,717	1,167
13	6,489	0,729	1,117
14	6,490	0,733	1,148
15	6,520	0,762	1,231
16	6,473	0,750	1,214
17	6,472	0,724	1,141
18	6,524	0,720	1,154
19	6,506	0,716	1,210
20	6,426	0,747	1,173
Média	6,507	0,735	1,167
Desvio padrão	0,0346	0,0191	0,0345
Coefficiente de Variação (%)	0,53	2,59	2,96

Coeficiente de Variação(%)=(Desvio Padrão / Média)×100.Dados:

Sachê: ≈ 0,53%. Dados: **Capsula:** ≈2,60%. Dados: **Comprimidos:** ≈2,96%.

Analisando-se os dados verifica-se que estão adequados e dentro dos limites farmacopeicos.

Teste qualitativo de Biureto

O teste qualitativo de Biureto é comumente utilizado para detectar a presença de proteínas em uma amostra, o método consiste na adição de hidróxido de sódio e sulfato de cobre, a uma solução contendo proteína, a reação ocorre quando há no mínimo 3 ligações peptídicas. O colágeno é uma proteína estrutural importante encontrada nos tecidos conjuntivos, como pele, ossos, tendões e cartilagens. O Biureto reage com ligações peptídicas presentes nas proteínas, formando um complexo de cor púrpura ou violeta (Figura 2). A intensidade da cor produzida está diretamente relacionada à quantidade de proteína presente na amostra, resultado do teste de Biureto:

Amostra 1 de água, negativo. Não detectado Proteínas.

Amostra 2 capsulas: Positivo para proteínas. Identificado: Colágeno.

Amostra 3 comprimidos: Positivo para proteínas. Identificado Colágeno.

Amostra 4 Sachê: Positivo para proteínas. Identificado Colágeno.



Figura 2 – Amostras: 1 contendo água, 2- cápsula, 3- comprimidos e 4- acima sachê.

Pelos resultados obtidos verifica-se que há presença de proteína o que neste caso deve ser o colágeno que é proteína indicada no rótulo e importante no tratamento estético ou ósseo dos consumidores.

As Tabelas 2, 3 e 4 apresentam os resultados da determinação da vitamina C nos colágenos

Tabela 2: Determinação de vitamina C por teste de iodo do Sachê de Verisol

Titulação			
Cada 1 m L de Iodo 0,1 N equivale a 8,806 mg de vitamina C (Aquino e col,2011).			
Verisol – Sachê			
Vitamina C = 45mg/ 1 sachê. Quantidade por porção 5g= 1 sachê			
Amostra	VOLUME(mL)	Teor em mg	Teor em %
1	8,3	73,09	162,42
2	8	70,45	156,55
3	7,5	66,05	146,77
4	7,6	66,93	148,72
5	7,5	66,05	146,77
6	7,5	66,05	146,77
Média		68,10	151,33
Desvio padrão		2,98	6,05
CV (%)		4,38	4,00

Ressalta-se que os resultados da quantidade de colágeno estão elevados e, portanto, fora da especificação.

Tabela 3: Determinação de vitamina C por teste de iodo das Cápsulas Osteo

Titulação			
Cada 1 m L de Iodo 0,1 N equivale a 8,806 mg de vitamina C (Aquino e col,2011).			
Osteo - Cápsula			
Vitamina C = 45mg/ 2 Cápsula. Quantidade por porção 1,4g= 2 cápsulas			
Amostra	Volume(m L)	Teor em mg	Teor em %
1	4,4	38,746	86,103
2	4,4	38,746	86,103
3	3,8	33,463	74,362
4	3,2	28,179	62,620
5	3,9	34,343	76,319
6	3,1	27,299	60,664
Média		33,463	74,362
Desvio padrão		4,950	11,000
CV (%)		14,79	14,79

Os valores obtidos para o conteúdo de vitamina C estão abaixo dos valores indicados no rótulo.

Tabela 4: Determinação de vitamina C por teste de iodo com o Comprimido Femme Tablet.

Titulação			
Cada 1 m L de Iodo 0,1 N equivale a 8,806 mg de vitamina C (Aquino e col,2011).			
Femme Tablet - Comprimido			
Vitamina C = 45mg/ 3 Comprimido. Quantidade por porção 3g= 3 Comprimidos			
Amostra	Volume(m L)	Teor em mg	Teor em %
1	14,6	128,57	285,71
2	6,0	52,84	117,41
3	17,2	151,46	336,58
4	4,5	39,63	88,06
5	5,5	48,43	107,63
6	18,0	158,51	352,24
7	16,5	145,30	322,89
8	16,0	140,90	313,10
Média		108,20	240,45
Desvio padrão		51,55	114,56
CV (%)		47,64	47,64

Os valores de padrões estatísticos estão acima do limite aceitável. Como o limite estabelecido é 5%, os CVs de 47,64% estão muito além do valor aceitável, o que sugere que ambos os conjuntos de dados estão altamente dispersos e com inconsistência nos dados e possivelmente indicam problemas no processo, experimento ou sistema sendo analisado. Os dados novamente estão fora dos designados nos rótulos.

Esta titulação tem seu ponto de viragem difícil de verificar sendo assim um fator primordial que pode ter contribuído para os resultados incorretos. Novas análises seriam necessárias, mas já não se dispunha de outras amostras e tempo hábil. Problemas com o preparo e obtenção dos reagentes também podem ter colaborado para os resultados alterados e que, portanto, não podem ser considerados.

6. Considerações finais:

No presente estudo, conclui-se que se fez notório a importância da pesquisa para este artigo, por meio dos testes realizados, trazendo consigo o aperfeiçoamento de métodos analíticos qualitativo-quantitativos como a titulometria realizada para determinação do teor de vitamina C, o teste de Biureto para detectar proteínas, assim como o despertar de resoluções de problemas durante a realização dos testes e estudos no sentido de explicar todos os resultados obtidos. Além disso, a pesquisa possibilitou o contato com os testes de controle de qualidade de suplementos alimentares disponíveis no mercado e dados referenciais da ANVISA como órgão regulador muito importante para direcionar a produção de produtos qualificados, assegurando que os suplementos atendam aos padrões estabelecidos.

Em virtude dos resultados em todos os ensaios de teor de vitamina C que estão bastante diferentes em relação aos rótulos, estes não devem ser considerados. A representação dos ensaios no laboratório promove a transparência entre rótulo e consumidor que deseja receber os benefícios do produto, sem riscos associados a produtos adulterados ou de baixa qualidade, reforçando a importância do setor de qualidade industrial e profissionais farmacêuticos capacitados nas linhas de produção acompanhando o processo de fabricação, nas preparações das formulações.

Destaca-se que os demais testes de peso médio e confirmação de proteínas foram realizados e os resultados estão adequados, estando todas as amostras dentro dos padrões de peso médio e todas as marcas apresentam proteínas em sua constituição, o que se deve ao fato de terem o colágeno como componente.

7. Referências Bibliográficas:

AQUINO, J. S., et al. Estudo da Estabilidade de Géis contendo Vitamina C manipulados em farmácias da cidade de Maringá – PR. Anais Eletrônicos VII EPCC Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar. CESUMAR – Centro Universitário de Maringá-PR. Editora Cesumar, 2011. Acesse Aqui: http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/julimary_suematsu_aquino.pdf

BRAM, S. *et al.* Ascorbic acid preferential toxicity for malignant melanoma cells. *Nature*, United Kingdom, v. 284, n. 5757, p. 629-631, Apr. 1980.

CARVALHO, W., RIBAS, A.E.B. *Cosmetologia aplicada à Estética*. Editora Farmacêutica. São Paulo. 2019.

HAZA, A. I. *et al.* Vitamin C Protects from Oxidative DNA Damage and Apoptosis Caused by Food N-Nitrosamines. In: KUCHARSKI, Hubert; ZAJAC, Julek (Ed.). *Handbook of Vitamin C Research*, New York, Nova Science Publishers, p. 87-127, 2009.

HOEHNE, L., MARMITT, L.G. Métodos para a determinação de Vitamina C em diferentes amostras. *Destaques Acadêmicos, Lajeado*, v. 11, n. 4, p. 36-55, 2019.

MANELA-AZULAY, LACERDA, C.A.M., PEREZ, MN.A., FILGUEIRA, A.L., CUZZI, T. Vitamina C. *An bras Dermatol*, Rio de Janeiro, 78(3):265-274, maio/jun. 2003.

MORITA, T. e ASSUMPCÃO, R. M. V. *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes: Padronização, Preparação, Purificação, Indicadores de Segurança e Descarte de Produtos Químicos*. 2ª edição, Blucher, 2007.

PROKSCH, E.; SEGGER, D.; DEGWERT, J.; SCHUNCK, M.; ZAGUE, V.; OESSER, S. Oral Supplementation of Specific Collagen Peptides Has Beneficial Effects on Human Skin Physiology: A Double-Blind, Placebo Controlled Study. *Skin Pharmacology and Physiology*, v. 27, n. 1, p. 47-55, 2014.

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 301, DE 21 DE AGOSTO DE 2019. Acesse aqui:
https://bvs.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2019/rdc0301_21_08_2019.pdf

RIBEIRO, C. *Cosmetologia aplicada a dermocosmética*. São Paulo: Pharmabooks, 2006.

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017. Acesse aqui:
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2017/rdc0166_24_07_2017.pdf

SANTOS, J.T., KRUTZMANN, M.W., BIERHALS, C.C., FEKSA, L.R. Os efeitos da suplementação com Vitamina C. *Revista Conhecimento Online | Novo Hamburgo*, n. 11, v. 1, p. 139-163. jan./abr. 2019.

VELLOSA, José Carlos Rebuglio et al. Alterações metabólicas e inflamatórias em condições de estresse oxidativo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 34, n. 3, p. 305-312, 2013.

ZAGUE, V.; FREITAS, V.; ROSA, M. C.; CASTRO, G.A.; JAEGER, R.G.; SANTELLI, G. M. M. Collagen Hydrolysate Intake Increases Skin Collagen Expression and Suppresses Matrix Metalloproteinase 2 Activity. *Journal of Medicinal Food*, v. 14, n. 6, p. 618-624, 2011.