

## PRÁCTICA 6: DETERMINACIÓN DE VITAMINAS Y MINERALES

---

### 1. DETERMINACIÓN DE LA DUREZA DEL AGUA MEDIANTE ANÁLISIS VOLUMÉTRICO CON EDTA

#### Introducción

La dureza del agua viene dada por la cantidad de sales cálcicas y magnésicas contenidas en la misma. Para determinar la dureza del agua se aplica la valoración con EDTA, que es un método oficial y se expresa en grados o en *mg de Ca o CaCO<sub>3</sub>/L*. También puede expresarse en Grado francés (°fH) que equivale a 10,0 mg CaCO<sub>3</sub>/L de agua.

El ligando etilendiaminotetraacetato (EDTA) forma compuestos complejos con numerosos iones inorgánicos, que incluyen el calcio y el magnesio. Esta reacción puede utilizarse, por medio de una valoración complexométrica, para determinar el contenido de estos elementos inorgánicos en una muestra.

Los puntos finales de la valoración se detectan utilizando indicadores como Eriocromo Negro T (EBT) o murexida, que cambian de color cuando se acomplejan con el calcio y el magnesio.

#### Fundamento

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) forma con el calcio y el magnesio, a pH 10, un complejo 1:1 estable.

El indicador Eriocromo Negro T (EBT) es de color rosa cuando se encuentran acomplejados con iones metálicos, pero de color azul cuando no hay iones metálicos acomplejados con ellos. Estos indicadores se enlazan a los iones metálicos menos fuertemente que lo hace el EDTA. Cuando se añade el indicador a una disolución que contenga iones metálicos, la disolución toma color rosa. Cuando se adiciona EDTA como agente valorante a la muestra conteniendo sales minerales, los iones metálicos se acomplejan preferentemente con el EDTA, dejando al indicador sin un ión metálico acomplejado. Cuando se ha adicionado suficiente EDTA para acomplejarse con todos los iones metálicos presentes, el indicador muestra su color azul. Este color azul es el punto final de la valoración.

Conociendo el volumen y la concentración del EDTA consumido en la valoración puede calcularse la concentración de calcio presente en la muestra que se expresa como mg de calcio o carbonato de calcio/litro. La estequiometría de las reacciones es de 1 mol de calcio o de magnesio acomplejándose con 1 mol de EDTA. El pH afecta a la valoración complexométrica con EDTA en distintas maneras y debe ser controlado cuidadosamente.

Puede determinarse también la dureza debida únicamente al calcio, ajustando el pH a 12-13 (el magnesio precipita como MgOH) y añadiendo murexida como indicador. En este caso, el viraje es a violeta.

#### Reactivos

- Eriocromo Negro T
- Murexida
- Na<sub>2</sub>EDTA·2H<sub>2</sub>O
- MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O
- NH<sub>4</sub>Cl
- Trietanolamina
- HCl

## Disoluciones

- Disolución amortiguadora pH 10 (buffer pH 10):  
Disolver 1,179 g de  $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (o en su defecto, 0,9256 g de EDTA + 0,127 g de NaOH) y 780 mg de  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) en 50 mL de agua destilada.  
Añadir esta solución a 16,9 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y 143 mL de hidróxido amónico concentrado, mezclando y diluir a 250 mL con agua destilada.
- Solución valorada de EDTA 0,01 M
- Solución de Eriocromo Negro T:  
Disolver 0,5 g de Eriocromo Negro T en 100 g de trietanolamina. Añadir 2 gotas por 50 mL para la valoración.
- Solución de murexida  
Mezclar 0,1 g de murexida + 25 g de ClK (finamente molido)
- Ácido clorhídrico, diluido con agua 1:1
- Trietanolamina al 30% (v,v)
- KOH al 20% (p,v)

## Desarrollo de la práctica

### 1. Determinación de la dureza total (suma de sales de Ca y Mg).

- Pipetear 25 mL del agua problema en un erlenmeyer y añadir 25 mL de agua destilada.
- Ajustar el pH a  $10\pm 0,05$ , añadiendo la solución buffer pH 10 a la muestra.
- Comprobar el pH con el pH-metro.
- Añadir unas gotas del indicador Eriocromo Negro T al erlenmeyer.
- Valorar con la solución de EDTA hasta que el color de la solución cambie de color rosa a azul (ojo! la solución tarda 5 segundos en el desarrollo del color).

### 2. Determinación de la dureza en calcio.

- Pipetear 25 mL del agua problema en un erlenmeyer y añadir 25 mL con agua destilada.
- Agregar 1 gota de la solución de trietanolamina al 30% (v,v).
- Agregar 1 mL de la solución de KOH al 20% (p,v)
- Agitar y ajustar el pH de la solución entre 12 y 13.
- Adicionar una puntita de espátula del indicador murexida.
- Valorar con la solución de EDTA hasta que el color de la solución cambie de rojo a violeta.

### 3. Determinación de la dureza en magnesio.

La diferencia entre la dureza total y la dureza cálcica (expresada ambas como mg/L de Ca o  $\text{CaCO}_3$ ), da directamente la dureza magnésica.

## Cálculos

En esta reacción se cumple que:

$$\text{mmoles Ca} = \text{mmoles de EDTA} = M_{\text{EDTA}} \times V_{\text{EDTA, ml}}$$

- La dureza total del agua es:  
 $\text{mmoles Ca} = \text{mmoles de EDTA} = M_{\text{EDTA}} \times V_{\text{EDTA, ml}}$ , siendo V el volumen (ml) gastado en la determinación de la dureza total.  
 $\text{mg Ca/L} = (\text{mmoles Ca}/25) \times 1000 \times 40.085$  siendo (PM Ca = 40.085)  
 $\text{mg CaCO}_3 = (\text{mmoles Ca}/25) \times 1000 \times 100.09$  siendo (PM  $\text{CaCO}_3$  = 100.09)

- La dureza cálcica del agua es:  
mmoles Ca = mmoles de EDTA =  $M_{\text{EDTA}} \times V_{\text{EDTA, ml}}$ , siendo V el volumen (ml) gastado en la determinación de la dureza en calcio.  
mg Ca/L = (mmoles Ca/25) x 1000 x 40.085 siendo (PM Ca = 40.085)  
mg CaCO<sub>3</sub> = (mmoles Ca/25) x 1000 x 100.09) siendo (PM CaCO<sub>3</sub> = 100.09)
- La dureza magnésica es la diferencia entre la dureza total y la dureza en calcio.

Tipos de agua	mg/l	°fH
Agua blanda	≤17	≤1.7
Agua levemente dura	≤60	≤6.0
Agua moderadamente dura	≤120	≤12.0
Agua dura	≤180	≤18.0
Agua muy dura	>180	>18.0

mg/l de CaCO<sub>3</sub>

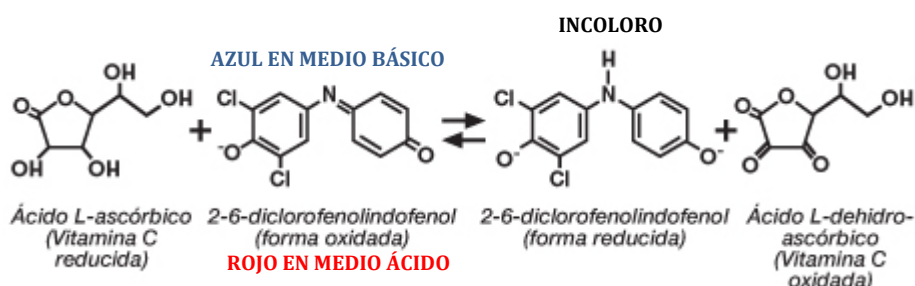
## 2. DETERMINACIÓN DE LA VITAMINA C EN ZUMOS MEDIANTE EL MÉTODO DEL INDOFENOL

### INTRODUCCIÓN Y FUNDAMENTO

La vitamina C es un nutriente esencial en la dieta, pero se reduce o degrada fácilmente por exposición al calor o al oxígeno durante el procesado, el envasado y conservación de los alimentos. La FDA exige que el contenido de vitamina C sea relacionado en la etiqueta nutricional de los alimentos. La inestabilidad de la vitamina C hace más difícil asegurar en la etiqueta nutricional una declaración exacta del contenido en vitamina C.

El método oficial de análisis para la determinación de la vitamina C en zumos es el método volumétrico del 2,6-diclorofenolindofenol (Método 967,21 de la AOAC). Aunque no es el oficial para otros tipos de productos alimentarios, también se utiliza como un ensayo control de calidad rápido, en lugar de métodos más laboriosos.

Este método se basa en el poder reductor del ácido ascórbico. El ácido ascórbico se determina por valoración con el colorante 2,6-diclorofenolindofenol que es reducido por el ácido ascórbico a una forma incolora en medio ácido. La forma oxidada del reactivo es azul y la reducida incolora.



Este método se puede aplicar en general a las sustancias alimenticias de las que se obtienen extractos incoloros o débilmente coloreados. Se producen interferencias en la determinación por coloraciones muy intensas de la muestra o algunos iones.

#### Reactivos

- Solución valorante de 2,6 diclorofenolindofenol (50 mg/100 mL, conservar protegido de la luz)
- Solución de ácido ascórbico (2 mg /100 mL). “Solución madre”
- Solución de ácido metafosfórico – ácidoacético

Disolver 15 g de pellets de HPO<sub>3</sub> en 40 mL de ácido acético y 200 mL de agua destilada. Enrasar con agua destilada en un matraz aforado de 500 mL y filtrar.

#### Desarrollo de la práctica

##### 1. Preparación y titulación de la curva patrón de ácido ascórbico

Preparar el volumen requerido (250mL) de la “solución madre” de ácido ascórbico (2 mg / 100 mL).

A partir de la “solución madre” recién preparada de ácido ascórbico, preparar las siguientes soluciones, añadiendo los volúmenes que se indican de ácido ascórbico, metafosfóricoacético y enrasando, en los casos necesarios, en un matraz aforado de 100 mL con agua destilada:

	Concentración ácido ascórbico	mL de solución de ácido ascórbico (2 mg/100mL)	mL de solución de metafosfórico/acético	Agua destilada	Valor de la titulación (Vol 2,6 DPIP)
Solución 1	1 mg / 100 mL	50	10	40	
Solución 2	0,75 mg /100 mL	37,5	10	52,5	
Solución 3	0,5 mg / 100 mL	25	10	65	
Solución 4	0,25 mg / 100 mL	12,5	25	62,5	
Solución 5	0 mg/100mL	0	50	50	

Llenar la bureta con la solución valorante de 2-6-diclorofenolindofenol y dejar caer el reactivo lentamente hasta que la muestra adquiera un color rosa muy pálido persistente.

Representar gráficamente, el volumen de reactivo consumido frente a la concentración de ácido ascórbico, para obtener la curva patrón.

## 2. Preparación y valoración de las muestras de zumo.

Si se trabaja con frutas, exprimir y filtrar con una gasa.

Tomar 10 mL del filtrado y llevarlos a un volumen de 100 mL con agua destilada y agitar.

Tomar 10 mL de la disolución, añadirle 10 mL de la solución metafosfórico/ácido acético y enrasar a 100 mL con agua destilada. Agitar.

Valorar con 2,6 diclorofenolindofenol.

## RESULTADOS

Calcular el valor de ácido ascórbico a partir de la curva patrón. Considerar que las muestras se han diluido 1/100. Expresar los resultados como mg de ácido ascórbico /100 mL de zumo.

El contenido de vitamina en la naranja es de 33 mg/100 g (USDA). La cantidad diaria recomendada varía con el sexo y la edad. A continuación se incluye unas tablas con datos orientativos.

CDR (Vitamina C) Food and Nutrition Board of the US Institute of Medicine

Edad	Hombres	Mujeres	Alimentos ricos en vitamina C*
1-3 Años	15	15	Kiwi 500
4-8 Años	25	25	Guayaba 480
9-13 Años	45	45	Pimiento rojo 204
14-18 Años	75	65	Grosella negra 200
+ 18 Años	90	75	Perejil 150
Fumadores + 18 Años	125	110	Caqui 130
Embarazadas		80-85	Col de Bruselas 100
Lactancia		115-120	Limón 80
			Coliflor 70
			Espinaca 60
			Fresa 60
			Naranja 50

\*Cantidades expresadas en mg/100 g. La cantidad recomendada por día es de 50-60 mg.