

ESTUDIO ESPECTROFOTOMETRICO DE LA REACCION ENTRE LA VITAMINA C Y EL 2-6-DICLOROINDOFENOL

por

R. HERNANDEZ (+) y F. BOSCH

SUMMARY

This work study the optimum conditions for the spectrofotometric valuation of vitamine C with 2-6-dichloro-indo-phenol.

The selected method require a weak acidified medium and it based on the extraction of the excess of the reagent with n-butanol and the espectro-photometric determination of such excess measuring the absorbance at 520-540 m μ . It permit the determination of vitamine C to concentrations included between 0 and 16 γ per ml.

RESUMEN

Se estudia en este trabajo las condiciones óptimas para una valoración espectrofotométrica de vitamina C con 2-6-dicloro-indo-fenol.

El método seleccionado requiere un pH ligeramente ácido, y está basado en la extracción del exceso de reactivo con l-butanol, y la determinación espectrofotométrica de este exceso midiendo la absorbancia a 520-540 m μ .

La técnica permite la determinación de concentraciones de vitamina C comprendidas entre 0 y 16 γ por ml.

Se hace un estudio del comportamiento de otras sustancias que habitualmente pueden acompañar al ácido ascórbico.

INTRODUCCION

Son numerosos los métodos propuestos para la valoración de vitamina C, prácticamente todos ellos basados en el poder reduc-

es solo aproximadamente de 0,5 v y por lo tanto solamente reductores marcadamente enérgicos y cuya cinética de reacción sea favorable reaccionarán de forma análoga. No obstante en el caso de existir en la disolución alguna sustancia de potencial suficientemente bajo, como puede ser el cloruro estamioso, aditivo autorizado y agregado en ocasiones a algunas conservas, o compuestos orgánicos con grupos —SH como el glutation, cualquier método directo es inadecuado y se hace necesario para una exacta determinación la separación previa de la vitamina C.

PARTE EXPERIMENTAL

1.—Influencia del pH en la estabilidad de la disolución roindofenol

Reactivos

Disolución de 2-6-dicloroindofenol.—Prepárese extemporáneamente disolviendo 100 mg del producto R.A. en 1 litro de agua destilada.

Agua destilada

Disolución 0,1 M de ácido clorhídrico

Disolución 0,2 M de orto-fosfórico

Disolución al 2% de metafosfórico

Disolución 1 M de ácido acético

Disolución reguladora 1,6 M de ácido acético - 1,2 M de acetato sódico.

Disolución 0,1 M de hidróxido sódico

Técnica

A 5 ml de la disolución del colorante se le adicionan 0,5-1-2 y 5 ml de la disolución ácida o alcalina relacionadas en el apartado de reactivos, leyendo la absorbancia de todas las disoluciones a los 10, 20 y 30 minutos. Los resultados obtenidos a 500 m μ fueron los siguientes:

TABLA I

ml de Ac. clorhídrico 0,1 N ...		0,5	1,0	2,0	5,0
D.O.	10 minutos	1	0,54	0,26	0,06
	20 "	0,65	0,245	0,09	0,03
	30 "	0,395	0,125	0,05	0,01

TABLA II

ml de ac. ortofosfórico 0,2 N		0,5	1,0	2,0	5,0
	10 minutos	0,14	0,08	0,06	0,04
	20 "	0,08	0,06	0,05	0,03
	30 "	—	—	—	—

TABLA III

ml de ac. metafosfórico 2% ...		0,5	1,0	2,0	5,0
	10 minutos	1,7	1,0	0,64	0,26
	20 "	1,0	0,7	0,38	0,13
	30 "	0,9	0,52	0,25	0,07

TABLA IV

ml de ácido acético 1 M ...		0,5	5,0
	10 minutos	1,9	0,82
	20 "	1,85	0,68
	30 "	1,8	0,56

TABLA V

ml de tampón acéticoacetato..		0,5	1,0	2,0	5,0
	10 minutos	2,0	2,0	1,8	1,1
	20 "	2,0	2,0	1,9	1,1
	30 "	2,0	1,95	1,8	1,0

TABLA VI

ml de NaOH 0,1 N	0,5	1,0	2,0	5,0
10 minutos	1,70	1,60	1,20	0,75
20 "	1,70	1,60	1,19	0,75
30 "	1,68	1,60	1,19	0,74

2.—Influencia del tiempo en la reacción entre 2,6-dicloroindofenol y la vitamina C.

Reactivos

Disolución "madre" de 2-6-dicloroindofenol. Se disuelven 100 mg del producto R. A. en 500 ml de agua destilada.

Disolución diluida de 2-6-dicloroindofenol. Diluir extemporaneamente al 20% la disolución anterior.

Disolución de vitamina C conteniendo 20 mg/litro.

Disolución reguladora de ácido acético 1,6 M.—Acetato sódico 1,2 M.

Técnica

Se colocan 0,5, 2 y 5 ml de la disolución de vitamina C en sendos tubos de ensayo, se completa con agua destilada a 5 ml, se agrega 2 ml de disolución reguladora y seguidamente 5 ml de la disolución diluida del colorante. Las absorbancias a 530 m μ fueron las siguientes:

Tiempo transcurrido	2 / ml Vit. C	8 / ml Vit. C	20 / ml Vit. C
6 minutos	0,420	0,155	0
15 "	0,410	0,160	0
25 "	0,420	0,160	0
60 "	0,420	0,155	0

3.—Extracción con disolventes orgánicos del exceso de 2-6-dicloroindofenol

Reactivos

Disolución "madre" de 2-6-dicloroindofenol. Disuélvase 100 mg del producto R. A. en 500 ml de agua destilada.

Disolución diluida de 2-6-dicloroindofenol.—Dilúyase extemporáneamente al 20% la anterior.

Disolución HCH_3COO 1,6 M - NaCH_2COO 1,2 M

n-butanol

Isobutanol

n-amílico

Isoamílico

Cloroformo

Tetracloruro de carbono

Eter de petróleo

Xileno

Técnica

A 5 ml de disolución conteniendo 8 ppm de vitamina C se le agrega 2 ml de tampon y seguidamente 5 ml de la disolución diluida de 2-6-dicloroindofenol. Se aguarda 10 minutos y seguidamente se extrae con 5 ml del respectivo disolvente. Finalmente se lee la absorbancia de la capa orgánica entre 360-600 $m\mu$.

Resultados

No se incluyen los valores obtenidos por el gran espacio que ello supondría. Con todos los disolventes a excepción del éter de petróleo se conseguía una extracción cuantitativa del exceso de 2-6-dicloroindofenol.

En los disolventes no alcohólicos (cloroformo, xileno...) la sensibilidad es algo inferior a la del n-butanol y los restantes alcoholes, presentando un máximo a 460-490 $m\mu$, y en el caso de los disolventes alcohólicos la misma absorción tiene lugar a 530-550 $m\mu$.

Considerando que la proporcionalidad del descenso de D. O. con la concentración de vitamina C, se sigue de forma análoga en casi

todos los disolventes, la elección del n-butanol para el resto de las experiencias no excluye la posibilidad de empleo de alguno de los otros alcoholes ensayados.

4.—*Método patrón seleccionado*

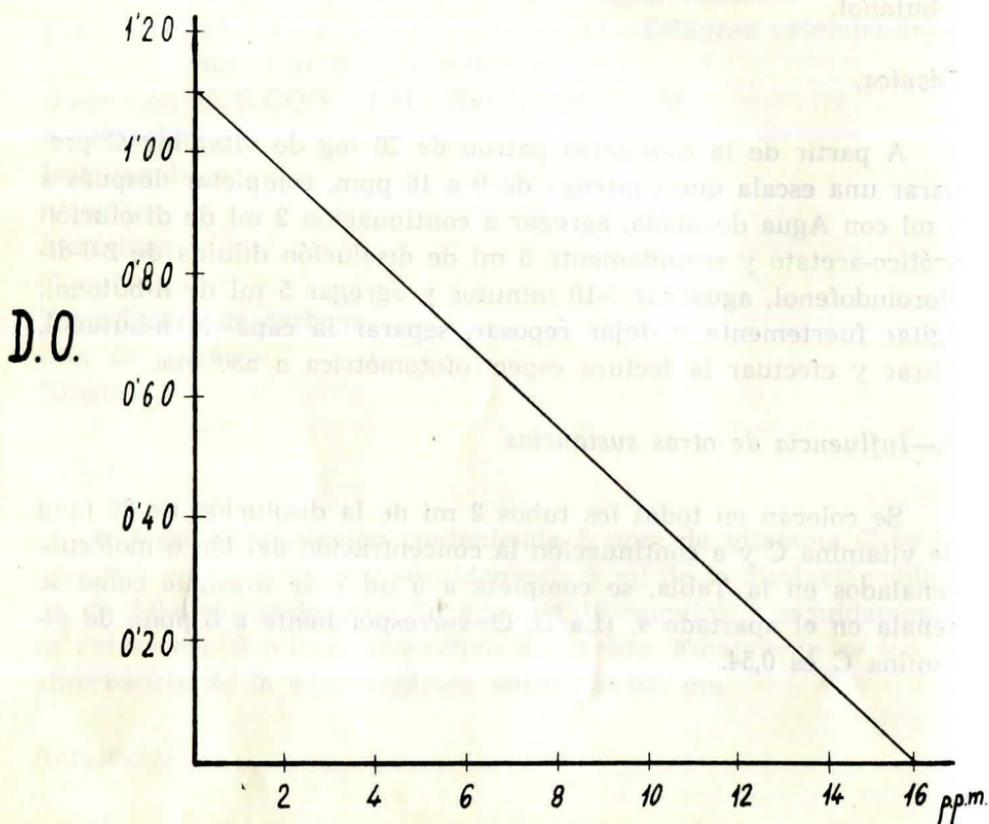
Reactivos Los mismos que en el ensayo 2 y n-butanol.

Técnica.

A partir de la disolución patrón de 20 mg de vitamina C preparar una escala que contenga de 0 a 16 ppm, completar después a 5 ml con Agua destilada, agregar a continuación 2 ml de disolución acético-acetato y seguidamente 5 ml de disolución diluida de 2-6-dicloroindofenol, aguardar 5-10 minutos y agregar 5 ml de n-butanol, agitar fuertemente y dejar reposar, separar la capa de n-butanol, filtrar y efectuar la lectura espectrofotométrica a 530 m μ .

5.—*Influencia de otras sustancias*

Se colocan en todos los tubos 2 ml de la disolución de 20 ppm de vitamina C y a continuación la concentración del ión o molécula señalados en la Tabla, se completa a 5 ml y se prosigue como se señala en el apartado 4. (La D. O. correspondiente a 8 ppm. de vitamina C es 0,54.



ION O MOLECULA	PPM	D. O.
Cl ⁻	6.000	0,54
Cl ⁻	36.000	0,57
HCO ₃	4.000	0,54
HCO ₃	20.000	0,58
SO ₄ ²⁻	4.000	0,54
SO ₄ ²⁻	24.000	0,53
NO ₃ ⁻	7.500	0,54
NO ₃ ⁻	45.000	0,53
PO ₄ ³⁻	2.000	0,54
PO ₄ ³⁻	10.000	0,52
Na ⁺	5.000	0,54
Na ⁺	30.000	0,53
K ⁺	5.000	0,54
K ⁺	30.000	0,50
Ca ²⁺	2.000	0,54
Ca ²⁺	12.000	0,53
Mg ²⁺	1.000	0,54
Fe ³⁺	30	0,98
Fe ³⁺	300	1,08
Glucosa	10.000	0,55
Glucosa	60.000	0,45
Sacarosa	10.000	0,55
Sacarosa	60.000	0,54
Lactosa	10.000	0,53
Lactosa	60.000	0,54
Vitamina B ₁	100	0,55
Vitamina B ₁	600	0,55
Vitamina B ₆	100	0,55
Vitamina B ₆	600	0,53

DISCUSION

De los ensayos verificados con la finalidad de deducir la estabilidad del reactivo en relación al pH, se puede comprobar como ésta disminuyó considerablemente a medida que lo hace el pH. En ácido acético 1 M, la inestabilidad es todavía apreciable espectrofotométricamente. Solo la disolución reguladora de ácido acético 1,6 M, o sea a pH aproximadamente 4,6, la estabilidad se puede considerar más que suficiente desde un punto de vista analítico. Los resultados obtenidos por nosotros están en perfecta consonancia con los logrados por Isamu Tachi y Shinji Koide (7), mediante técnicas potenciométricas y polarográficas, en su trabajo estos autores llegan a la conclusión de que el pH óptimo para el 2-6-dicloroindofenol es de 4 a 6, por debajo de pH 3,5 el compuesto se descompone rápidamente, por encima de 7 la oxidación tanto del ácido ascórbico como del 2-6-dicloroindofenol es muy rápida.

La Tabla correspondiente al ensayo, de la influencia del tiempo en la reacción entre el 2-6-dicloroindofenol y la vitamina C, reflejan que la reacción es relativamente rápida y que el producto de reacción es marcadamente estable en las condiciones ensayadas.

Se ha estudiado el comportamiento de cierto número de sustancias que frecuentemente acompañan a la vitamina C en los problemas habituales. Es de resaltar la no interferencia de las vitaminas B₁ y B₆, a concentraciones 100 veces superior, así como las de sacarina, lactosa y la mayoría de los iones más frecuentes a concentración incluso 10.000 veces superior; la glucosa interfiere ligeramente. El Fe (III) es una interferencia importante, debido sin duda a su carácter ligeramente oxidante.

