

DETERMINACION ESPECTROFLUOROMETRICA EN FRUTAS  
DE Ca(II) AL ESTADO DE Ca-CALCEINA

por

J. GONZALEZ MILLAN, M.<sup>a</sup> C. LOPEZ MARTINEZ Y  
R. GARCIA-VILLANOVA

RESUMEN

Se ha propuesto un método espectrofluorométrico para la determinación de Ca(II) en frutas previa formación del quelato Ca-Calceína. Los resultados obtenidos son reproducibles y el método es más selectivo que otros métodos espectrofotométricos. La determinación de Ca(II) es posible directamente y en tiempo menor que el empleado con otros métodos espectrofotométricos.

SUMMARY

A spectrofluorometric method is proposed for determination of Ca (II) in fruits based on the Ca-Calceine chelate. The results obtained are perfectly reproducible and the method becomes more selective than other spectrophotometric methods. The determination of Ca (II) is directly possible in less time than other spectrophotometric methods.

RÉSUMÉ

On a proposé une méthode spectrofluorimétrique pour la détermination de Ca(II) en fruits préalable la formation du quelate Ca-Calceine. Les résultats obtenus sont reproductibles et la méthode est plus sélective qu'autres méthodes spectrophotométriques. La détermination de Ca (II) est possible directement et plus rapide qu'autres méthodes spectrophotométriques.

INTRODUCCION

Desde la puesta a punto del método propuesto por CORREA y col. (1, 2, 3 y 4) para la determinación de Ca(II) en verduras y frutas en este Departamento, se ha aplicado el mismo con

éxito y ha permitido confirmar la viabilidad y versatilidad del método propuesto.

El presente trabajo viene a completar el ya estudiado y se amplía a otras clases de frutas no estudiadas en los trabajos anteriores por razones obvias.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Material*

Espectrofluorómetro Hitachi-Perkin-Elmer, mod. 204 y registro gráfico de igual marca, mod. 165.

Estufa Heraeus, tipo RT 360.

Potenciómetro Radiometer, mod. pH Meter 26.

### *Reactivos y disoluciones*

Calceína, Merck R. A.

Carbonato Cálcico, Merck R. A.

Acido nítrico, Merck R. A.

Acido perclórico, Merck R. A.

Disolución KOH 0,8 N.— 22,4 g de KOH (Merck R.A.) disueltos en agua desionizada hasta 500 ml.

Disolución patrón de Ca(II).—2.4970 g de  $\text{CO}_3\text{Ca}$  (Merck R. A.) se disuelven en la menor cantidad de HCl 6N y se diluyen hasta 1000 ml. Se obtiene una disolución de 100 mg/l.

Disolución madre de Calceína.—0,1 g de calceína (Merck R. A.) se disuelven en 100 ml de disolución 0,8 N de KOH. Es estable un mes en la oscuridad y a 4°C.

### *Medida de la fluorescencia y condiciones óptimas de formación del quelato Ca-Calceína.*

Hemos comprobado las ya fijadas por CORREA y col. (loc. cit.) y se consiguen con un volumen de disolución de Ca(II) de  $20\mu\text{l}$  a una concentración del orden de 10 mg %, 4 ml de disolución de calceína  $1,6 \cdot 10^{-5}$  M, temperatura de 20°C, sensibilidad del aparato x2, selector xl, longitud de onda de excitación 475 nm y de emisión 525 nm.

### *Recta patrón*

Se preparan disoluciones a partir de la disolución madre de Ca(II) de 100 mg % por dilución en matraces de 100 ml, desde 6 mg % (que corresponden a 1,2  $\mu\text{g}$  de Ca(II) hasta 17 mg % (3, 4  $\mu\text{g}$  de Ca(II)) de los que se pipetea siempre 20  $\mu\text{l}$ .

La recta de calibrado asegura una función lineal entre la intensidad de la fluorescencia emitida y la concentración de Ca(II) entre 8 y 16 mg % de las disoluciones ensayadas.

Las posibles interferencias de los iones Mg(II) y  $\text{PO}_4^{3-}$  han sido estudiadas (1) y no afectan a las condiciones de trabajo del método propuesto para la determinación de Ca(II) en frutas.

### *Preparación de las muestras para el análisis*

#### a) Obtención de la materia seca.

Por tratarse de muestra fresca, se procede al lavado con agua destilada para eliminar la tierra y demás impurezas. Se elige la parte comestible, y después de troceada se tritura hasta obtener una pasta. Parte de la misma, homogeneizada, se deseca en estufa a 100-110°C. El producto desecado se reduce a polvo en mortero de vidrio y se completa la desecación en estufa hasta peso constante.

#### b) Digestión nítrico-perclórica.

Unos gramos del producto pulverizado, pesados en vidrio de reloj tarado se trasladan a un vaso de precipitados de unos 100 ml y se agrega un volumen de ácido nítrico ( $d = 1,4$ ,  $\text{riq.} = 75\%$ ) 10 veces superior al de polvo a fin de que toda la materia sea atacada con un calentamiento suave si ello fuese preciso. El vaso debe cubrirse con un vidrio de reloj que evite las consecuencias de una eventual proyección.

Después de unos minutos de oxidación energética en la cual se desprenden abundantes vapores rojos y se reduce el volumen de materia orgánica, se agregan unos mililitros de agua desionizada y más tarde, disolución de ácido perclórico del 70% en la proporción de 1/3 con respecto al volumen de ácido nítrico empleado. La adición de agua desionizada debe repetirse a

fin de que la disolución no tenga aspecto siruposo y se consiga una disolución de color amarillo de paja que indica la mineralización total de la muestra.

El residuo se trata con agua y evapora seguidamente para eliminar el oxidante.

### c) Preparación de la disolución problema.

El vidrio de reloj y el vaso se lavan con pequeñas porciones de agua desionizada y se evapora a sequedad. El residuo blanco, que consta de una parte soluble y otra insoluble constituida principalmente por silice, se trata con agua caliente y decanta varias veces, recogiendo las aguas en un matraz aforado de 10 ml que se completa hasta el enrase con agua desionizada.

### *Valoración de Ca (II) presente en la muestra*

La recta de calibrado de las disoluciones patrón, obtenida en las condiciones antes señaladas cumple la Ley de Lambert-Beer adecuada a la espectrofluorimetría para concentraciones comprendidas entre 8 y 16 mg.

### *Método*

4 ml de disolución madre de calceína se colocan en la cubeta del espectrofluorómetro y se añaden 20  $\mu$ l de la disolución de la muestra contenida en el matraz de 10 ml. Con una varilla de vidrio fina se agita el contenido de la cubeta y se espera 3 minutos para la lectura. El blanco empleado es la disolución madre de calceína.

### *Cálculo del Ca(II)*

Los mg% de Ca (II) en la muestra se calculan con la siguiente expresión:

$$\text{mg\% de Ca (II)} = \frac{B}{A} \cdot 10$$

siendo A los gramos de sustancia seca pesados para el ensayo y B los miligramos por 100 de Ca(II) que según la recta de cali-

brado corresponden a la intensidad de la fluorescencia observada.

En la Tabla I se resumen los resultados encontrados en las muestras de frutas ensayadas de acuerdo con la técnica seguida. En ella se hacen constar los gramos de muestra seca de la cual se ha partido para el ensayo y la cifra encontrada de calcio. Dicha cifra corresponde a la media de 12 determinaciones.

TABLA I.—Muestras de frutas ensayadas

CLASE DE FRUTA	MUESTRA SECA g	mg% Ca(II) encontrados (media)
1.—Fresas	5	27,1
2.—Manzanas	6	15,3
3.—Melocotones	4	37,9
4.—Peras	4	25,8

En la Tabla II se hacen constar la varianza, desviación típica ( $\sigma$ ), error medio del resultado ( $\Delta \bar{x}$ ) y error relativo de los ensayos practicados en las frutas citadas. Dicho cálculo está hecho sobre 12 medidas en cada una de las muestras:

TABLA II.—Datos relativos al error del método.

Muestra N.º	Varianza	Desviación típica ( $\sigma$ )	Error medio del resultado ( $\Delta \bar{x}$ )	Error relativo sobre el vaor medio %
1	0,1275	0,3569	0,1030	1,08
2	0,1922	0,4384	0,1265	2,15
3	0,2940	0,5422	0,1565	1,15
4	0,2844	0,5353	0,1539	1,72

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS

El método ensayado confirma la viabilidad de la técnica desarrollada (4) y las ventajas de la mineralización húmeda.

El método permite la determinación de Calcio en frutas conservadas y enlatadas y las interferencias debidas al magnesio y los fosfatos pueden considerarse despreciables.

La rapidez, facilidad de ejecución, el escaso consumo de reactivos y precisión del método han quedado confirmadas en

las experiencias realizadas en frutas distintas de las ensayadas en el trabajo original (4).

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) CORREA-GONZALEZ, I., LOPEZ-MARTINEZ, M.<sup>a</sup> C. y GARCIA-VILLANOVA, R.—*Ciencia e Industria Farmacéutica*, 8, 333 (1976).
- (2) CORREA-GONZALEZ, I., LOPEZ-MARTINEZ, M.<sup>a</sup> C. y GARCIA-VILLANOVA, R.—*Ciencia e Industria Farmacéutica*, 8, 336 (1976).
- (3) CORREA-GONZALEZ, I., LOPEZ-MARTINEZ, M.<sup>a</sup> C. y GARCIA-VILLANOVA, R.—*Ciencia e Industria Farmacéutica*, 9, 8 (1977).
- (4) CORREA-GONZALEZ, I., LOPEZ-MARTINEZ, M.<sup>a</sup> C. y GARCIA-VILLANOVA, R.—*Anales de Bromatología*, 29, 361 (1977).