

Tesis de Posgrado

Aplicación del EDTA (ácido etilen-diamino-tetracético) en análisis bromatológico

Fernández, Alicia Esther

1959

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Fernández, Alicia Esther. (1959). Aplicación del EDTA (ácido etilen-diamino-tetracético) en análisis bromatológico. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0996_Fernandez.pdf

Cita tipo Chicago:

Fernández, Alicia Esther. "Aplicación del EDTA (ácido etilen-diamino-tetracético) en análisis bromatológico". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1959. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0996_Fernandez.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Resumen de la tesis presentada para optar al título de Doctora
en Química por:

ALICIA ESTHER FERNANDEZ

"Aplicación del EDTA (ácido etilen-diamino-tetracético) en
análisis bromatológico".

El propósito de este trabajo fué el de hallar un método rápido y simple en la determinación de calcio y magnesio en distintos alimentos.

Después de hacer un control de la valoración de calcio y magnesio en soluciones patrón, se vió si la distinta proporción en que se podían encontrar tenía algún inconveniente en su determinación. También se averiguó si el hierro y zinc producían interferencia.

Luego se pasó a las aplicaciones del complejante III o sal disódica del ácido etilendiaminotetracético, determinándose la dureza de aguas, el contenido de calcio en leche, la cantidad de calcio y magnesio presente en jugo de uva, tomate natural, jugo de tomate envasado, extracto de tomate envasado y harina de trigo.

La determinación de calcio y magnesio con versenate o complejante III, se basa simplemente en llevar la solución de la sustancia problema, libre de interferentes, al pH

necesario para cada una de las determinaciones, siendo 12 para la determinación de calcio y 10 para la determinación de magnesio, utilizando para tal fin HONa N en el primer caso y una solución buffer formada por $\text{ClNH}_4\text{-NH}_4\text{OH}$ en el segundo.

En la determinación de calcio, titulado con versenate, se usa como indicador murexida, el que vira de rosa salmón a violado, aunque a veces no sean exactamente estos colores (por el color que tiene la solución antes de la titulación) por lo que hay que tomar como punto final de la titulación aquel en el que el agregado de más complejante no produzca más cambio de coloración. Es recomendable una valoración preliminar de orientación.

En la determinación de magnesio, titulando con versenate, se usa como indicador negro de eriochrome T o F 241 que es la sal sódica de un colorante dihidroxiazóico sulfonado y nitrado, que es de color rojo-vino en presencia de magnesio y vira al azul en el punto de equivalencia o sea en el momento en que todos los iones magnesio unidos al colorante se unen al complejante ocurriendo esto porque el complejo magnesio-complejante es más estable que el complejo magnesio-colorante. El punto final en algunas ocasiones puede no ser azul debiéndose esto a que la solución ya sea coloreada de por sí (un ejemplo lo tenemos en una solución que tenga cromato, el que le imparte un color amarillento a la solución y al titular el punto final en vez de ser azul es verde), por lo cual hay que tomar como punto final aquel en que ya no hay cambio en el tinte de la solución.

En la determinación de magnesio se trabaja en me dio amoniacal de pH 10 pues para valores más elevados puede precipitar hidróxido de magnesio y además el colorante es más alcalino dando color anaranjado por lo que el punto final azul no es obtenido. Si se trabaja a pH menores el metal está ligado menos intensamente a la materia colorante.

Si en la solución a titular están presentes calcio y magnesio se determina la suma de los dos como se hace para magnesio solo y en otra parte alícuota se determina calcio solo. Si de la primera determinación restamos el calcio hallado tenemos la cantidad de magnesio presente.

Si en una solución hay calcio pero no magnesio, los iones calcio además de determinarlos con murexida, como ya hemos dicho, los podemos determinar agregando a la solución una cantidad conocida de ión magnesio y determinar entonces la suma del calcio presente más el magnesio agregado y restando da aquí el magnesio agregado tenemos la cantidad de magnesio presente en la solución. Los iones calcio en ausencia de magnesio no los podemos determinar con negro eriochrome T, pues la constante de formación del complejo calcio-colorante es demasiado débil para producir un cambio de coloración apreciable. En cambio al agregar el magnesio se puede determinar el calcio pues el complejante III o versenate tiene una afinidad mayor para el calcio que para el magnesio por lo cual se combinará primero al calcio y después a los iones magnesio libres y por último a los iones magnesio combinados al negro eriochrome T.

Si cuando se dosa magnesio están presentes en la solución otros iones que pueden interferir hay que añadir los reactivos necesarios para evitarlo, como por ejemplo el sulfuro de sodio para impedir la interferencia de los metales pesados, el ioduro de potasio para evitar el mercurio, el tartrato de amonio para evitar la interferencia del aluminio y para eliminar la interferencia del Zn, Cd, Cu, Hg el cianuro de sodio.

En la determinación de calcio se cuenta con la ventaja de que muchos de los iones interferentes son precipitados antes de la titulación como hidróxidos por el pH a que se trabaja, pero tenemos otra desventaja y es que casi siempre junto con el calcio hay presentes iones fosfatos en una cantidad tal que interfiere con la titulación, lo que hay que evitar.

En cuanto a las aplicaciones bromatológicas realizadas, los resultados obtenidos permiten concluir que:

a) para aguas resulta más ventajoso que el método permanganimétrico y el titrimétrico mediante solución jabonosa, tanto por la sencillez de manualidad como por la exactitud del dato hallado.

b) para leche es aconsejable el método propuesto por Robert Jennes partiendo de la coagulación de la caseína con ácido mineral seguida de eliminación de fosfatos mediante una resina intercambiadora de aniones.

c) para el jugo de uvas es también aconsejable la aplicación de la resina intercambiadora de aniones, pre-

via dilución al tercio con agua destilada.

d) en el caso de pasta y jugo de tomates también da buen resultado la eliminación de fosfato mediante resina intercambiadora de aniones, previo tratamiento con ácido clorhídrico diluido (0,5 - 1,0 N) y filtración que permite obtener una solución clara y ligeramente amarillenta.

e) la harina de cereal es el único caso de los estudiados que no ha dado resultados netamente satisfactorios, debido al alto contenido en fosfatos y la dificultad en eliminarlos, aunque en las condiciones descriptas se lograron datos próximos a los obtenibles por permanganimetría.

En base a la experimentación realizada, más lo expuesto en la bibliografía especial sobre el tema, puede recomendarse el uso del EDTA o versenato en análisis bromatológicos, teniendo en cuenta las sustancias interferentes y la posibilidad de eliminarlas en cada caso particular. Su aplicación simplificaría los métodos de valoración de calcio y magnesio en muchos productos.

R. Spentis

Alicia E. Fernández

FCEN-BA

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

APLICACION DEL EDTA (ácido etilen-diamino-tetraacético) EN
ANALISIS BROMATOLOGICO

por ALICIA ESTHER FERNANDEZ

T E S I S
para optar al título
de:

DOCTORA EN QUIMICA

Buenos Aires
1959

TESIS: 990

A mi hijo

Padrino de Tesis:

DR. ADOLFO L. MONTES

**Agradesco sinceramente al Doctor
Adolfo L. Montes por haber tomado
bajo su dirección el presente tra-
bajo, orientándolo con sus valio-
sas indicaciones.-**

FOENSA

INDICE

	<u>Páginas</u>
LOS COMPLEJANTES, SUS CARACTERISTICAS Y APLICACIONES ANALITICAS GENERALES	1
<u>APLICACIONES EN ANALISIS BROMATOLOGICO:</u>	
DETERMINACION DE DUREZAS DE AGUA	35 y 50
DETERMINACION DE Ca Y Mg EN LECHE Y FRACCIONES DE LECHE	66
DETERMINACION DE Ca EN TOMATES	73
<u>PORTE EXPERIMENTAL</u>	
CONTROL EN LA VALORACION DE Ca Y Mg en SOLUCIONES PATRON	78
DETERMINACION DE Ca Y Mg en SOLUCIONES QUE TIENEN DISTINTAS PROPORCIONES DE AQUELLOS	84
DETERMINACION DE Ca y Mg EN SOLUCIONES CONTENIENDO HIERRO	90
DETERMINACION DE Ca y Mg EN SOLUCIONES CONTENIENDO ZINC	91
DETERMINACION DE DUREZAS DE AGUAS	92
DETERMINACION DE CALCIO EN LECHE	96
DETERMINACION DE CALCIO Y MAGNESIO EN JUGOS DE FRUTAS: UVA Y TOMATE	99
DETERMINACION DE CALCIO Y MAGNESIO EN HARINA DE TRIGO	105
<u>RESUMEN</u>	110
<u>CONCLUSIONES</u>	117
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	122

LOS COMPLEJANTES Y SUS APLICACIONES

La formación de complejos es utilizada desde hace mucho tiempo en análisis; pero ha tomado, en los últimos años, una importancia muy particular sobre la cual conviene llamar la atención. Esta importancia reside en realidad en que nuevas técnicas pongan a nuestra disposición métodos volumétricos simples, precisos y rápidos, que no necesitan ningún aparataje especial y pueden ser puestos en manos poco expertas después de un rápido aprendizaje.

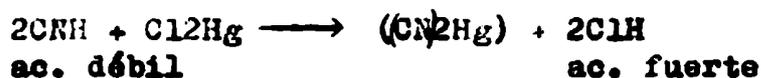
Después de los trabajos de Werner en 1893, muchos complejos metálicos fueron preparados y su número no cesa de crecer. Algunos son coloreados y se prestan a un dosaje espectrofotométrico o colorimétrico. Bastará recordar el ejemplo clásico del Zn y la ditizona entre muchos otros. Algunos son insolubles en el medio donde se forman y conducen naturalmente a un dosaje gravimétrico de catión metálico. Los numerosos complejos formados por la oxima (o *o* hidroxiquinoleína) son los ejemplos más usuales.

Por el contrario, si se consideran los métodos volumétricos que utilizan la formación de complejos se ve que su número está bastante restringido. Se puede, por cierto, determinar por bromometría la oxima en exceso, pero en este caso el reactivo orgánico es utilizado como agente de precipitación y el término medio de dosaje propiamente dicho no tiene nada que ver con la formación de complejos.

No podemos olvidar el método ciano-argentimétrico de Liebig-Denigés que todavía rinde múltiples servicios.

Entre los procedimientos utilizados para la acidimetría, es decir, los procedimientos basados esencialmente en el hecho de que la complejación de un ión metálico es acompañada de una variación de pH, los métodos son poco numerosos. Su campo de aplicación no se había ensanchado mucho.

Recordaremos la utilización de los complejos manito y glicerobóricos y también que desde 1903, Andrews ha enseñado que, si se le agrega una sal de mercurio tal como el bicloruro al ácido cianhídrico (ácido débil no titulable directamente por la sosa en medio acuoso) se observa una liberación de protones H^+ . De ello resulta una acidificación importante de la solución que se hace entonces dosificable por la soda. El mercurio puede, pues, ser dosado por acidimetría en presencia de ácido cianhídrico, y esto según la ecuación:



La facilidad con que el ión mercurio forma complejos tal como el bicloruro, los iodomercuriados lo ha hecho aprovechar más que los otros métodos volumétricos basados en la formación de complejos.

Tales reacciones, aplicables a otros cationes, son conocidas pero ellas fueron poco utilizadas. Esto puede parecer tanto más sorprendente pero la mayor parte de las reacciones de complejos es acompañada de efectos de pH tanto en los complejos minerales como en los complejos orgánicos de tipo "quelatos". La complejación en este caso debe cumplir a lo menos tres condiciones esenciales (5).

1º) El compuesto complejante debe tener un ácido (o una base) débil para que el efecto de pH sea visible.

2º) El complejo formado debe ser muy estable para que la reacción sea irreversible.

3º) La reacción debe ser rápida para no introducir complicaciones inútiles.

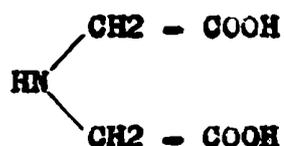
Muy frecuentemente los complejos estables se forman muy lentamente. Este es el caso del cobalto que reacciona sobre el ácido cianhídrico, según la ecuación



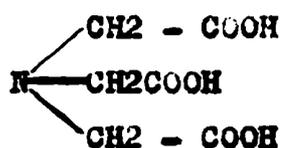
para dar un complejo cobáltico con liberación de protones. El complejo cobáltico es uno de los más estables, pero su velocidad de formación es muy débil, los protones solo son liberados progresivamente.

Por todas estas reacciones, la complejación no se aplicaba hasta ahora sino en algunos métodos volumétricos de los cuales acabamos de enumerar los principales.

En 1945 Schwarzenbach, (11) de la Universidad de Zurich, tuvo la idea de utilizar como agentes complejantes los compuestos ya conocidos en la industria después de 1936 y denominados tritons en Alemania y celons en Francia. Estos son los compuestos orgánicos que presentan en su molécula al menos dos restos de ácido acético unidos a un solo átomo de nitrógeno y que no pueden considerarse como los derivados del ácido amino diacético



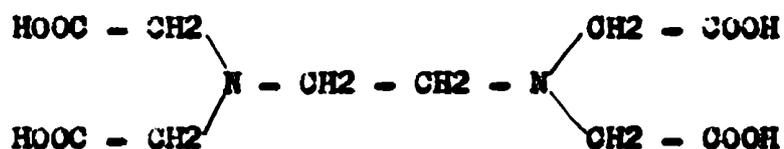
El triton A está constituido por la sal trisodica del ácido triacetil amino y el tritón B por la sal tetrasodica del ácido etilen-diamino-tetracético



ácido triacetil amino. NH_2

(complejante I)

sal trisodica = triton A



ácido etilen diamino tetracético NH_4

(complejante II)

sal tetrasodica = triton B

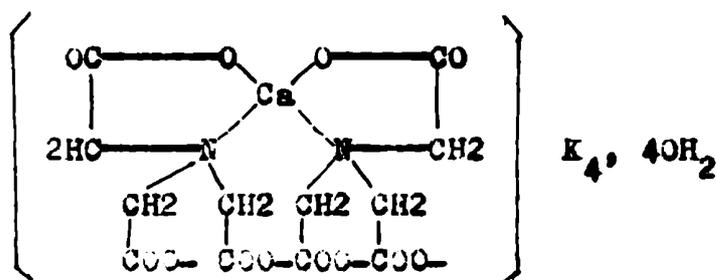
sal disodica = complejante III

Estas sales son notables por su facilidad a formar con los alcalino-térreos complejos estables, muy solubles en el agua. Los iones calcio, por ejemplo, son complejados y en consecuencia disimulados en sus reactivos analíticos usuales; ellos ya no pueden ser descubiertos por precipitación al estado de oxalato, de fosfato o de carbonato.

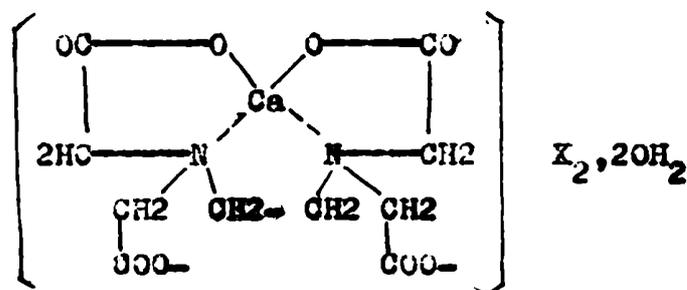
Los trilonas tienen empleo en la industria como suavizante del agua y tienen usos varios en tintorería, imprenta y

en la industria fotográfica.

Estos cuerpos forman complejos con otros muchos metales además de los alcalinos-térreos, y en una serie de publicaciones hechas de 1940 a 1949 Pfeiffer Britzinger y sus colaboradores (9-10) las estudian. Ellos aislaron los complejos por los métodos preparativos usuales y le atribuyeron las fórmulas desarrolladas de las cuales cito dos ejemplos:



complejo cálcico de titron A ($X_2K_4Ca, 4OH_2$)



complejo cálcico de titron B ($YK_2Ca, 2OH_2$)

Vemos que, en el caso de titron A, para un átomo de calcio dos moléculas de ácido triacetil amino son necesarias y que para el titron B una sola molécula de ácido interviene para complejar el ión calcio.

Schwarzenbach estudió las variaciones de pH en la complejación. Estableció las reglas que rigen las estructuras mo-

leculares de compuestos orgánicos y permite obtener complejaciones interesantes. Pone a punto los métodos de dosaje en los cuales el punto final está marcado por los indicadores de iones metálicos. El da el nombre de complejantes a los trilonos utilizados en análisis:

El complejante I está constituido por el ácido triacetil amino.
 El complejante II por el ácido etilen diamino tetracético.
 El complejante III por la sal disódica de este último ácido.

I - Métodos acidimétricos.

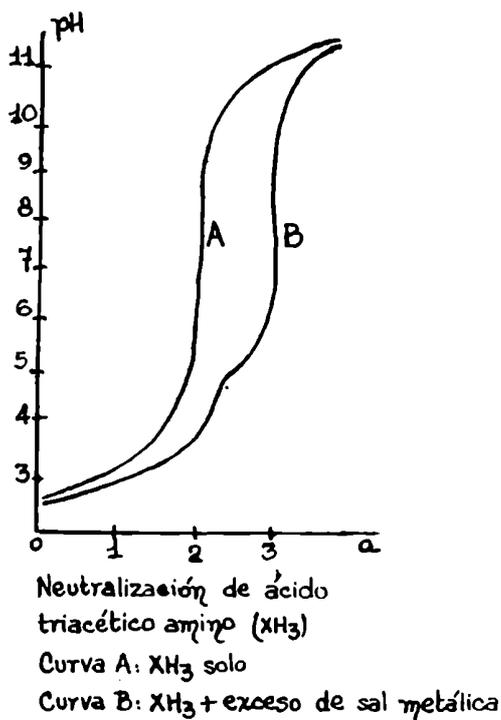
Estos métodos se basan en que el fenómeno de complejación es acompañado por una variación importante de pH.

A. Complejante I

Tomamos como ejemplo detallado el complejante I que escribimos abreviadamente XH_3

a) Neutralización de XH_3 en ausencia de todo ión metálico extraño.

A un volúmen determinado y fijo de una solución pura de complejante I de una cierta concentración (del orden de $2,1 \cdot 10^{-3}$) añadimos cantidades crecientes de una solución titulada de un hidróxido alcalino (solución decinormal de hidróxido de tetrametil amonio que ofrece la ventaja de no ser complejable). Medimos los diferentes valores de pH y trazamos un gráfico de la curva obtenida llevando en abscisas el número a de equivalentes de base agregadas y en ordenadas los pH medidos.



Obtenemos una curva de la forma A. Comprobamos que un salto muy importante de pH se produce cuando agregamos dos equivalentes de base.

De esta curva podemos deducir que el ácido considerado aquí posee dos protones ácidos fuerte (de lo cual la neutralización interviene en una zona de pH ácidos) y un protón ácido débil (apareciendo por un pH cercano a 10).

Los pK correspondientes a los diferentes ácidos calculados des-

pues de los resultados experimentales son respectivamente iguales a: 3,03 para pK_1 , 3,07 para pK_2 y 10,70 para pK_3 .

Vemos que las dos primeras constantes son muy próximas, la diferencia $pK_2 - pK_1$, es igual a 4 centesimas, lo que es extraordinariamente débil. Esto ha hecho formular a Schwarzenbach la hipótesis de que la pérdida del primer protón produce un cambio de estructura del ión restante.

El complejante I se comporta como un diácido muy fuerte que puede ser titulado con el rojo de metilo como indicador. La tercera acidez, por el contrario, es muy débil. En efecto, el pH de una sal dialcalina en solución se sitúa hacia 6,8 y el pH de la sal trialcalina está situada alrededor de 10.

b) Neutralización de XH_2 en presencia de iones metálicos.

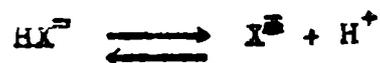
Al complejante I agregamos dos equivalentes y medio de hidróxido alcalino; vemos sobre la curva A que el pH está cerca de 9-10.

En la solución vertemos un exceso de Cl_2Ca neutralizado; el pH vira hacia 5, y si hemos operado en presencia de un indicador universal, observamos un fuerte cambio de coloración. Comprobamos pues una acidificación de la solución.

Para precisar el fenómeno, rehacemos una curva de neutralización en presencia de exceso de catión complejable: obtenemos una curva B muy diferente de A. Para obtener un salto importante de pH hay que agregar tres equivalentes de base y no dos.

La curva de neutralización de los dos primeros equivalentes ácidos es poco modificada al principio, pero la neutralización del tercer protón no interviene ya para pH 10 sino para un pH cercano a 5. La formación del complejo ha acarreado una acidificación importante de la solución.

En la solución, tenemos después de agregado dos equivalentes de base el siguiente equilibrio entre los iones:



Ahora bien como el ión X^{\ominus} compleja muy fuertemente al catión metálico, desaparece del segundo miembro de la ecuación y el equilibrio de la reacción es desplazado hacia la derecha: la solución se acidifica.

La siguiente ecuación da perfecta cuenta de la forma de la curva B. Se produce un cambio de un protón por intermedio de un ión calcio.

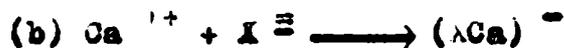


Esta reacción puede descomponerse en dos ecuaciones que se pueden formular así:

Una ecuación (a) expresa la disociación del ión HX^{\equiv}



Una ecuación (b) da cuenta de la complejación del ión metálico por el ión X^{\equiv}

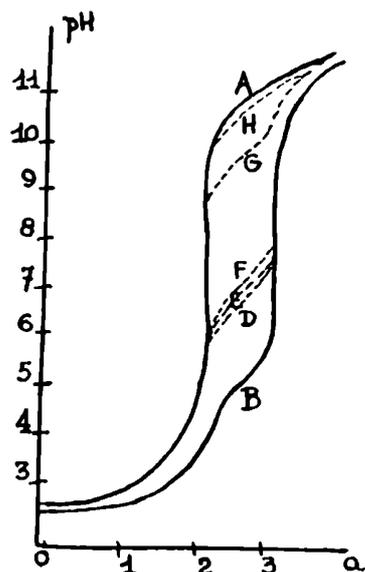


Sumando las dos ecuaciones miembro a miembro tenemos la ecuación (c).

(c) $\text{Ca}^{++} + \text{HX}^{\equiv} \longrightarrow (\text{XCa})^{-} + \text{H}^{+}$ ecuación que da cuenta de la curva B.

El equilibrio de (a) está dado por el pK_3 . Los puntos de la curva B suministran la constante de la ecuación (c). De ella utilizamos estos dos datos experimentales y calculamos la constante de equilibrio de la ecuación (b) que no es otra que la constante de complejación K_0 . Esa constante es igual a:

$$\frac{(\text{XCa})^{-}}{(\text{Ca}^{++}) (\text{X}^{\equiv})}$$



Neutralización del ácido
amino triacético

A-	XH ₃	sólo
B-	XH ₃	con un exceso de Ca
D-	"	" " " " " Mg
E-	"	" " " " " Sr
F-	"	" " " " " Ba
G-	"	" " " " " Li
H-	"	" " " " " Na

En el caso del calcio, su valor está cerca de 10^{-6} , valor muy elevado que hace prever una estabilidad muy particular de complejos.

Operando en presencia de diversas sales metálicas obtenemos curvas semejantes a la obtenida en presencia de eluro de calcio tales como D, E, F, G, H relativas al Mg, Sr, Ba, Li, Na, curvas que sirven para calcular las constantes de complejación de las cuales vemos a continuación algunos de los valores para los iones usuales:

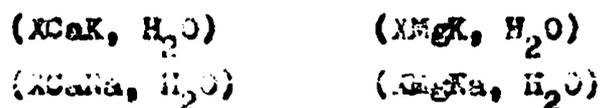
	Ca	Mg	Sr	Zn	Li	Na
K_0	$1,5 \cdot 10^8$	$1,0 \cdot 10^7$	$5,4 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^2$
$K_0 > 10$	para Mi^{++} , Zn^{++} , Co^{++} , La^{+++} , Al^{+++} , Cr^{+++} , Fe^{+++} , Co^{+++}					

Se ve que los cationes monovalentes Li y Na, tienen constantes que aunque débiles en relación con la de los alcalino-térreos son sin embargo muy apreciables, puesto que ellas son del orden de 10^3 y 10^2 .

Las curvas de neutralización en presencia de cationes son tanto más rebajadas en relación a la curva A cuanto más elevadas son las constantes de complejación.

Dicho de otro modo, el salto de pH es tanto más marcado cuando la constante es más alta.

Los complejos formados no tienen una simple existencia teórica, sino que han podido ser aislados por Schwarzenbach, que ha previsto su existencia unicamente por el estudio de las curvas de neutralización. El ha preparado las sales de Na y de K de los complejos cálcicos y magnésicos. Sales cristalinas con una molécula de agua y cuyas fórmulas brutas son las siguientes:



c) Aplicación a los dosajes acidimétricos de los metales.

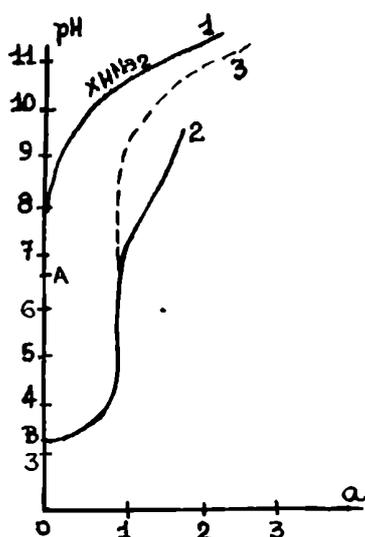


fig. 7

- 1- Neutralización de XHNa_2
- 2- Curva obtenida en presencia de $\text{Cd} + \text{XHNa}_2$ en exceso
- 3- Curva obtenida en presencia de $\text{Cd} + \text{XHNa}_2$ en cantidades equivalentes.

En posesión de estos elementos teóricos, podemos pasar al dosaje propiamente dicho de los cationes metálicos observando que acá no operamos con un exceso de sal metálica, sino por el contrario con un exceso de complejante de manera de estar seguro de que la totalidad de los iones metálicos que debemos dosar hayan sido bien complejados.

En la práctica, podemos partir de una sal disódica XNa_2 del ácido amino triacético, sal cuya solución acuosa tiene un pH cercano a 6,8 a las concentraciones utilizadas (acá la concentración es de 10^{-3}).

A una solución neutra de una sal metálica agregamos la solución de complejante KHNa en ligero exceso: la mezcla se acidifica; el pH cae a un valor que para la mayoría de los cationes, está cerca de 3,5 (excepto para el Mg^{++} , Mn^{++} y Be^{++} para los cuales el pH queda entre 4 y 5).

Este pH está representado en el gráfico de la figura 7 por el punto B. Este punto B está situado tanto más bajo cuando la estabilidad del complejo formado es mayor.

Aquí ha habido liberación de protones H^+ según la ecuación indicada



La adición progresiva de soda o de potasa y la medida de pH permite trazar la curva de neutralización. Se obtiene una curva de la forma 2 para los cationes bivalentes, curva que presenta un salto importante de pH por una adición de base correspondiente a un equivalente por átomo de metal puesto en juego. Esta curva 2 se dobla ligeramente hacia la derecha, y el salto de pH está, aún siendo apreciable, bastante disminuido. Esto es debido al exceso de complejante agregado: se forma los complejos de orden más elevados. En efecto, si trabajamos con las cantidades estrictamente equivalentes de complejante y de ión metálico, obtenemos la curva 3, donde el salto de pH es más neto.

La disminución del salto de pH en presencia de un exceso de complejante es importante en la ejecución de los dosajes y requiere precauciones especiales.

Ejecución de los dosajes

Soluciones necesarias

1º) Soda o potasa decinormal, exenta de CO_2 , pues el salto de pH se produce en una zona donde los indicadores son influidos por el ácido carbónico.

2º) Sal disódica o dipotásica del complejante I, decimolecular, preparada neutralizando el ácido amino triacético por un hidróxido alcalino en presencia de rojo de metilo hasta la obtención de un pH comprendido entre 6 y 7 (el pH de la sal dipotásica del complejante I es 6,8).

Modo operativo

1º) Llevamos la solución de sal metálica a un pH conveniente, pues esta solución no debe contener ácido libre preexistente que sería evidentemente dosado al mismo tiempo que los protones liberados por la complejación. Prácticamente, se neutraliza por la soda en presencia de rojo de metilo ya que éste vira a un pH cercano a 6,8.

A este pH, numerosas sales metálicas comienzan a precipitar bajo forma de hidróxido. Se puede sin embargo impedir esta precipitación por artificios varios. En el caso más simple (por Cd, Zn, Co, Ni, Mn y Fe^{++}), la adición previa de ClNH_4 en la proporción de 1 p 100 basta para prevenir la precipitación. En el caso del Hg, se trabaja en presencia de un exceso de ClNa .

Otros casos especiales pueden presentarse, en particular para el Cu^{++} , el Pb y el Al. Schwarzenbach ha resuelto

el problema facilmente para cada uno de ellos (12).

2°) A la solución metálica así preparada se agrega un exceso de complejante decimolecular sin perder de vista el hecho que este exceso debe ser también pequeño para que el salto de pH sea bastante importante. El indicador vira al rojo (sise trata de rojo de metilo) como consecuencia de la liberación de protones.

3°) Finalmente se titula la mezcla con hidróxido alcalino decinormal hasta viraje del indicador a amarillo.

Para evitar un exceso demasiado grande de complejante, lo mejor es agregar ésta progresivamente trabajando con dos buretas de Mohr, de las cuales una está llena de solución de complejante I y la otra de la solución titulante alcalina. Se procede a las efusiones alternativas hasta que no haya más variaciones de pH es decir hasta que la coloración del rojo de metilo sea estable.

Notas

El indicador más generalmente empleado es el rojo de metilo. Sin embargo otros indicadores pueden ser utilizados, así como se pueden ver en la tabla II donde están indicados los saltos de pH y los indicadores.

///...

Metal $c = 10^{-2}$ a 10^{-3}	Equivalentes de base agregada.	Salto de pH	Indicador
Ca	1	6,8-9,0	fenolftaleína
Cd	1	4,5-6,3	rojo de metilo
Co ⁺⁺	1	4,7-7,9	—
Cu ⁺⁺	1	4,5-8	—
Hg ⁺⁺	1	4,5-9	—
Mn	1	6,0-8,4	azul de bromo timol
Ni	1	4,6-7,5	rojo de metilo
Pb	1	5,0-8	—
Zn	1	4,9-8,0	—
Co ⁺⁺⁺	1 y 2	7,0-8,2	rojo de fenol
La ⁺⁺⁺	1 y 2	7,4-8,6	α naftolftaleína
Al	1 y 2	7,0-8,0	rojo de fenol
Mg	1	7,5-8,0	α naftolftaleína

Dosaje acidimétrico de los metales por el complejante I
(XH_3).

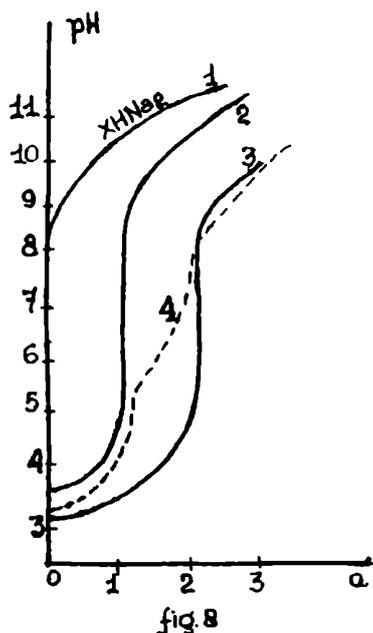
Cuando se está en presencia de cationes coloreados tales como Co, Ni, Cu, se pueden utilizar los indicadores que viran al rojo o al azul (ftaleína o sulfonftaleína, por ejemplo) pues la visibilidad es mejor, aunque el viraje del rojo de metilo puede distinguirse bastante fácilmente, aún en presencia de estos cationes. En el caso en que se experimentan dificultades demasiado grandes, desde este punto de vista la solución es practicar un dosaje potenciométrico (con un pH-metro por ejemplo).

Estos principios se aplican sobre todo a los cationes metálicos bivalentes, y en este caso el cálculo de los resultados es muy simple puesto que

un equivalente de álcali consume correspondientemente 1 átomo gramo de metal.

Se puede así dosar los metales de la tabla anteriormente dada, lista que comprende los cationes interesantes.

Para los cationes trivalentes, en particular el hierro férrico, el cromo y el lantano, no es más para un equivalente de base, sino para dos equivalentes por átomo de metal puesto en juego que se produce un salto notable de pH, como lo podemos ver en la curva 3 de la figura 8 que se



- fig. 8
2. Neutralización de $XHNa_2$
en presencia de Cd.
3. " " " Fe^{+++}
4. " " " Al

refiere al hierro férrico. Esto es debido a la formación de complejos de otro tipo, de complejos Hidroxo, que no hacemos más que señalar, sin entrar en el estudio detallado hecho por Schwarzenbach.

Para otros cationes trivalentes, tal el aluminio y el cromo (curva 4, figura 8) hay pequeños saltos de pH para $a=1$ y para $a=2$, pero ellos son difícilmente medibles porque las zonas tope de diversos complejos formados se fusionan entre ellos.

En el caso de los cationes trivalentes cuyos saltos de pH son medidos, un equivalente de álcali corresponde a medio átomo gramo de metal.

B. Empleo de otros complejantes.

Schwarzenbach ha estudiado por los mismos métodos toda una serie de compuestos orgánicos de tipo similar, compuestos sobre los cuales están injertas las funciones ácidas variadas (15). Tiene también redactada una lista de cuerpos que presentan gran poder complejante y las condiciones más favorables a las medidas.

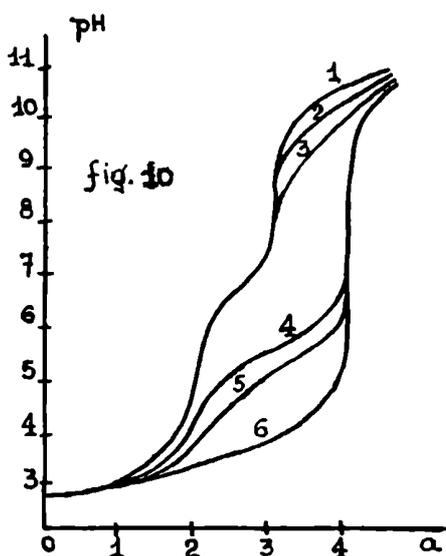
Ha formulado algunas reglas teóricas precisando las estructuras que deben presentar tales poliácidos, reglas que han sido claramente resumidas por Souchay (8).

Complejante II y complejante III. Sobre el ácido etileno diamino tetraacético o complejante II que escribimos abreviadamente YH_4 , seremos muy breve aunque este compuesto sea prácticamente muy importante. En efecto los principios enunciados precedentemente quedan valederos. Schwarzenbach se ha dedicado a un estudio exactamente calcado sobre los del complejante I (13). Las curvas relativas a estos cuerpos están trazadas en la figura 10.

La curva 1 es relativa a la neutralización en ausencia de sales extrañas. Vemos que las dos primeras acideces son fuertes, la tercera término medio, la cuarta muy débil. Los pK son respectivamente iguales a: 1,99; 2,67; 6,16; 10,26.

Las otras curvas son las curvas de neutralización establecidas en presencia de un exceso de cationes metálicos diversos.

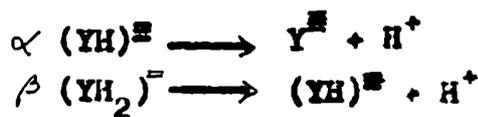
Consideraremos en particular las curvas 4,5,6 relativas a un exceso de Ba, Mg y Ca; vemos que el complejo tiene sus dos últimas acideces exaltadas. En efecto el pH de la sal trialcalina, que es de 8,5 tumba en las cercanías de 3,5 por



Neutralización del ácido etilén
diamino tetracético (YH₄)

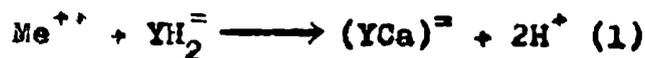
1. YH₄ sólo
2. YH₄ + exceso de Na.
3. " + " " Li
4. " + " " Ba
5. " + " " Mg
6. " + " " Ca

adición de sal metálica y el pH de sal dialcalina, que es igual a 5, vira a 3. Un razonamiento similar al empleado para el complejante I muestra que el ión Y⁼ compleja muy fuertemente los alcalino-térreos, los equilibrios de disociación α y β correspondientes a las sales tri y dialcalinas están desplazados hacia la derecha y la solución se acidifica:



Si trabajamos con la sal disódica, la reacción dará cuenta de la forma de la curva que se expresa por

la ecuación (1) en el caso de un catión bivalente



y hay liberación de dos protones para un solo catión.

Si trabajamos con la sal trisódica, tenemos la ecua-

ción (2)



con liberación de un solo protón.

Aquí entonces, se puede calcular las constantes de complejación K_o , de los cuales algunos valores están indicados en la tabla 4. Vemos que estas constantes son particularmente elevadas para los alcalino-térreos

	Ca	Mg	Sr	Ba	Li	Na
K_o	$3,9 \cdot 10^{10}$	$4,9 \cdot 10^8$	$4,9 \cdot 10^8$	$5,6 \cdot 10^7$	610	47

Tabla 4.- Complejante II, YH_4 , constantes de complejación.

En la práctica para los dosajes, se puede trabajar comodamente con la sal disódica o complejante III, sal que es comercial. Ahí entonces, hay que evitar en general un fuerte exsceso de complejante para no reducir la importancia del salto de pH.

El modo de operar está indicado por el descripto para el complejante I con una restricción que es de importancia. En el caso de un catión bivalente, la presencia de CO_2 de la atmósfera o de los reactivos no es muy molesta. En efecto cuando se neutraliza por la soda, el salto de pH empieza cerca de 5, y a este pH los indicadores no son influidos por el CO_2 . Se utiliza una mezcla de rojo de metilo y de verde de bromo cresol, que pasa de rojo a verde para un pH de 5,1.

Bien entendido, si trabajamos con la sal trisódica como hay que utilizar los indicadores del tipo fenolftaleína, es necesario trabajar al abfigo del CO_2 .

Aplicaciones de los métodos complejo-acidimétricos.

Los métodos que acabamos de describir han permitido establecer la existencia de nuevos complejos solubles, y de calcular sus constantes, lo que forma una base teórica muy sólida. Ellos han permitido dosar numerosos iones ya sea los indicadores de pH ya sea las medidas potenciométricas.

Sin embargo se han revelado menos utilizables en la práctica que lo que se podía preveer, por una parte parece que ellos no son específicos, por otra parte parece que el ión metálico debe encontrarse al estado de sal pura (sin exceso de ácido en particular). Este caso ideal se presenta a menudo para los productos farmacéuticos.

Este caso se presenta igualmente en la determinación de la dureza del agua, problema industrial muy importante para los cuales Schwarzenbach, Biederman y Bargester (22) han utilizado la sal trisódica del complejante II y la sal disódica del ácido uramil diaoético. El método ha sido perfeccionado por Hahn (24) que utiliza la sal tetrasódica YNa_4 . Sin embargo, este último método es bastante delicado para poner en práctica. Aunque así sea, el método acidimétrico queda como base teórica del estudio de los complejantes.

II. Métodos que utilizan los indicadores iones metálicos

Ante las dificultades que hemos señalado y que hace el método acidimétrico menos práctico y menos simple de lo que podíamos esperar, Schwarzenbach ideó utilizar indicadores sensibles a la presencia de iones metálicos libres.

Estos indicadores para metales cambian de color al momento cuando las últimas trazas de cationes metálicos desaparecen de la solución al entrar en los complejos fuertes que ellos dan con los trilonos.

Dentro de estas condiciones:

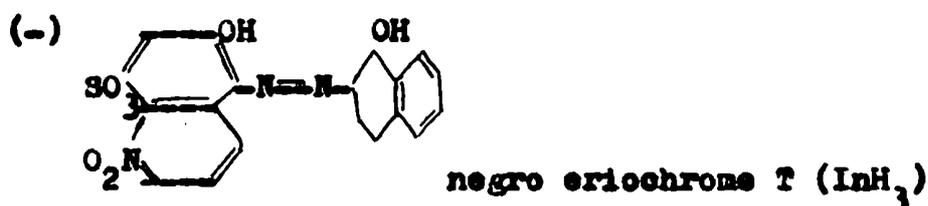
- no será necesario neutralizar exactamente la solución antes de la dosificación,
- el CO_2 y los otros ácidos o bases débiles no intervendrán,
- la determinación gana en simplicidad.

En fin se puede esperar una ganancia de especificidad porque los indicadores para metales son numerosos y selectivos. Por el contrario, será necesario trabajar en una zona de pH determinada y, en consecuencia, de llevar las soluciones antes del dosaje al pH deseado.

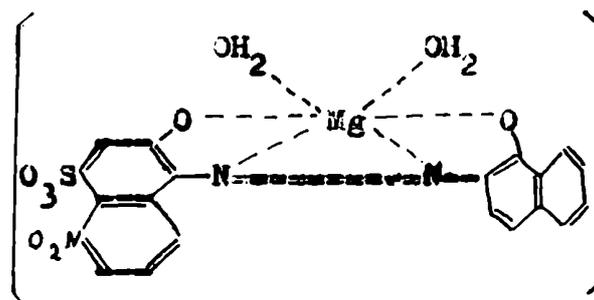
Los indicadores para metales son conocidos y han sido utilizados desde largo tiempo atrás. Recordaremos por ejemplo, que desde 1858 F. Beilstein había indicado la murexida como indicador del ión calcio y que el empleo del ión tiocianato como indicador del ión férrico es tan antiguo como clásico.

A. Dosis en presencia de negro eriochrome T

El negro eriochrome T es uno de los indicadores más importantes señalados por Schwarzenbach y está constituido por la sal sódica de un colorante dehidroazoico sulfonado y nitrado (17).

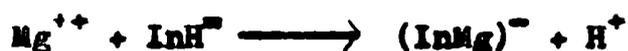


Este compuesto vira de azul a rojo vino en presencia de ciertos cationes metálicos (en particular el magnesio) en una zona de pH comprendida entre 8 y 10. Precisando los datos experimentales establecidos por Brenner desde 1920 (16), Schwarzenbach ha mostrado que había formación entre la materia colorante y los cationes, de verdaderos complejos tipo quelatos de los cuales ha podido medirse las constantes y de lo cual ha dado la fórmula desarrollada.



complejo negro eriochrome T-magnesio

En el caso del magnesio y llamando In la parte no ionizada, se puede admitir que la acción sobre el catión metálico puede formularse así, para un pH comprendido entre 8 y 10



La partícula InH^{\ominus} que corresponde a una sal dialcalina (InHNa_2) es azul, el complejo formado $(\text{InMg})^{\ominus}$ es rojo vino y la constante de complejación correspondiente K_{In} es igual a 10^7 .

Así pues si a una solución de sal metálica llevada a un pH cercano a 9 por adición de una solución amoniacal se agrega negro eriochrome, la solución toma una coloración roja.

Inversamente, cuando se agrega el complejante este complejará en primer lugar los iones metálicos libres, y después la pequeña cantidad de cationes combinados al colorante. En el punto de equivalencia el colorante liberado vira al azul del rojo. Se trató ahí de una verdadera competición entre dos complejos.

El complejo (magnesio-complejante) se muestra más estable que el complejo (magnesio-colorante), así dan cuenta las constantes respectivas: 10^8 para el primero y 10^7 para el segundo. El primero se formará pues a costas del segundo.

Se trabaja en medio amoniacal de pH 10, pues para los valores más elevados los hidroxidos (y en particular el Mg) podrán precipitar. Para un pH más débil, el metal será ligado menos intensamente a la materia colorante.

Como agente de complejación, se utiliza el complejante III en razón de sus constantes elevadas con los alcalino-térreos.

a) Método directo

Se aplica a los cationes cuyos hidróxidos son solubles en medio amoniacal. En la solución de sal metálica llevada a pH 10 a la que se ha agregado negro eriochrome y que por esta razón es rojo-vino, se agrega poco a poco una solución titulada de complejante III hasta viraje al azul.

Este método viene bien a las sales de Zn y de Cd, para las cuales el viraje es particularmente neto, como lo muestra la curva de la figura 13 obtenida llevando en abscisas los cm^3 de solución dosificante y en ordenadas la absorción luminosa (la flecha indica las cantidades teóricas).

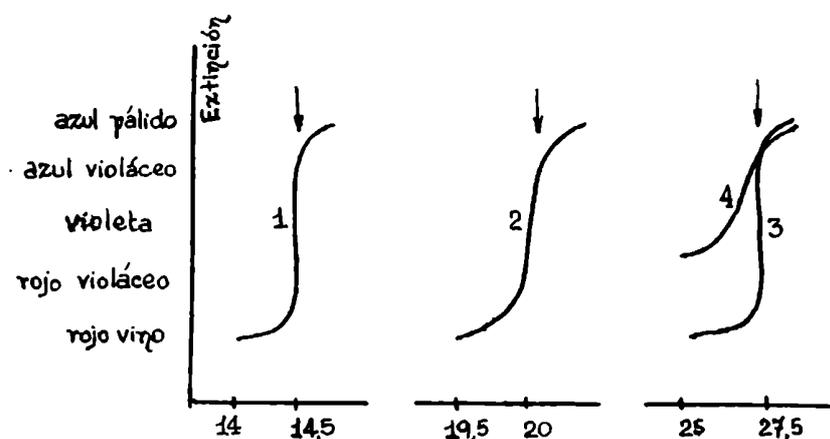


Fig. 13.- Dosaje de cationes por el complejante III en presencia de negro eriochrome T

- | | |
|---------------|-----------------------------------|
| 1.- Sal de Zn | 3.- Sal de Ca + sal de Mg 5 p.100 |
| 2.- Sal de Mg | 4.- Sal de Ca. |

Podemos indicar, que ensayos hechos en el laboratorio de M. Gautier han dado un viraje todavía excelente trabajando con soluciones centinormales y que estos virajes no son enturbiados en medio hidroalcohólico en 50p. 100, lo que ofrece interés para los dosajes en presencia de ciertos alcaloides (36).

Para el magnesio, que constituye una de las aplicaciones más interesantes, el viraje en el caso de concentraciones débiles (10^{-4} por litro) es más neta que para las concentraciones elevadas. De todo modo, hacia las altas concentraciones no hay que pasar la decimonormalidad, y en este caso es preferible operar cerca de 40-45° con objeto de acelerar la formación del complejo y evitar los virajes estirados.

Caso del calcio

La constante de formación de la combinación con la materia colorante es del orden de 10^5 ; ella es demasiado débil para determinar un cambio de coloraciones fácilmente apreciable. Esto se puede ver en la curva 4 de la figura 13: el viraje es lento y se produce demasiado pronto.

Sin embargo se puede dosar el calcio si se agrega un poco de magnesio a la solución. En efecto, el complejante III tiene una afinidad mayor para el calcio (constante 10^{10}) que para el magnesio (constante 10^8); luego en el curso del dosaje se combinará primero el calcio y después los iones magnesio libres y por último el magnesio combinado al negro eriochrome, que vira del rojo vino al azul (curva 3, figura 13).

Luego bastará restar de la cantidad de complejante agregado la correspondiente al magnesio agregado.

Por el mismo procedimiento, se puede dosar el estroncio, pero el método no se aplica al bario.

b) Método indirecto

Ciertos cationes como Pb, Mn, Hg forman hidróxidos poco solubles en el medio amoniacal de pH 10 que hemos utilizado hasta ahora. Es sin embargo fácil de dosificarlo utilizando un método por retorno.

A la solución ácida de estas sales se comienza por agregar un exceso de solución titulada de complejante. Se agrega después la mezcla ClNH_4 amoniacal; los cationes son disueltos en el complejo que se está formando en zona ácida y no precipitan. Se determina el exceso de complejante agregado al medio de una solución titulada de una sal de Zn o de Mg.

En este caso, el viraje se hace del azul, coloración del negro eriochrome en presencia de un exceso de complejante, al rojo vino, coloración del negro eriochrome en presencia de una pequeña cantidad de catión Zn o Mg.

Este método por retorno se aplica igualmente bien al dosaje de sales de calcio o de magnesio insolubles en medio amoniacal.

En particular es fácil de dosar siguiendo el mismo principio el calcio de un fosfato tricálcico. Basta disolver el fosfato en un ácido (ClH por ejemplo) y agregar un exceso de complejante antes de llevar a medio amoniacal: se repasa en el caso precedente, el fosfato de calcio no precipita más, igual en medio amoniacal en presencia de un exceso de complejante.

Si en la solución a dosar, varios metales están presentes se dosará la suma.

Es sin embargo posible eliminar fácilmente ciertos iones molestos. Si se debe dosar los alcalino-térreos y en particular el magnesio, la adición de sulfuro de sodio eliminará los metales pesados. De la misma manera es posible por adición de ioduro de potasio disimular el Hg. Es así que se puede dosar el Zn y el Cd al lado del Hg sin que este intervenga para enturbiar el dosaje.

La adición de cianuro disfraza el Zn, Cd, Cu, Hg de tal suerte que los alcalino-térreos se hacen dosificables en presencia de estos metales.

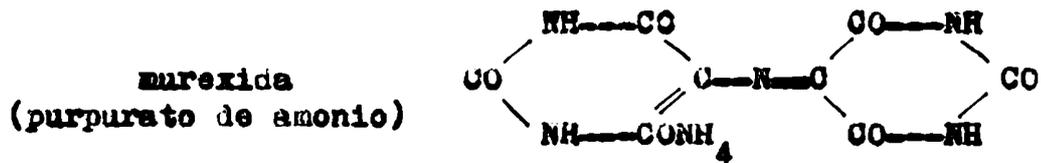
El método del negro eriochrome no se aplica al Cu, Co, Ni, Fe, Al, porque los complejos formados con la materia colorante son demasiado estables porque intervienen fenómenos secundarios y en particular las reducciones que alteran las coloraciones.

B. Dosaje en presencia de murexida

a) Caso del calcio

La murexida, o purpurato de amonio, cuya fórmula indicamos constituye otro indicador de ión metálico muy interesante.





Como ha indicado Beilstein (18), ella vira en solución alcalina del violeta azul al rojo en presencia del ión calcio.

Sometiendo esta reacción a un estudio profundo, Schwarzenbach y Gyaling (20) han podido mostrar que se forma entre la murexida y el ión calcio un complejo coloreado soluble del cual se pueden medir las constantes de complejación.

Los iones calcio se asocian con el purpurato en las proporciones de 1 a 1, y el color del ión purpurato depende de pCa_{m} ($\log Ca^{++}$), de la misma manera que el color de un indicador ácido-base depende del pH.

Sin embargo el complejo formado entre el ión calcio y el complejante III es más estable que este formado con la murexida. El complejante III desplazará pues el calcio de su combinación con la murexida y permitirá un dosaje directo del ión calcio. El viraje se hará del rojo al violeta azul.

El modo operativo es muy simple.

La solución cálcica, de una concentración inferior a 500 mg por litro de catión, se trae a un pH superior a 10 por adición de soda. Se agrega algunas gotas de indicador constituido por una solución saturada de murexida y se titula inmediatamente por el complejante III para evitar la carbonatación debida al CO_2 atmosférico.

b) Caso de otros metales

La murexida forma evidentemente combinaciones con otros cationes metálicos además del calcio. Sin embargo es notable que el magnesio no molesta particularmente ni tampoco el Sr y Ba (aún en gran exceso). Esto es muy importante, pues ahí hay un método simple y directo de dosaje del calcio en presencia de magnesio, caso muy frecuente y bastante fastidioso para el analista.

El Cu^{++} en solución amoniacal tratado con la murexida tiene una constante de complejación Cu-indicador elevada, por lo cual puede ser dosado muy fácilmente.

De la misma manera el níquel.

Sin embargo el método indicado para el ión calcio conserva todo su valor en presencia de pequeñas cantidades de metales interferentes así es como Betz y Noll (28) han podido redactar una lista provisoria, que damos a continuación, de cationes y aniones que no molestan al curso del dosaje. Se trata ahí de una simple indicación y no del máximo de concentración compatible con el dosaje.

iones	ppm	iones	ppm
Cu	2	$\text{SO}_4^{=}$	10.000
Fe^{++}	20	crómato	500
Fe^{+++}	20	silicato	100
Mn	10	carbonato	50
Zn	5	bicarbonato	500
Pb	5	nitrate	500
Al	5	nitrito	500
Sn	5	polifosfato	100
		sulfito	500

///...

		NH ₃ (en N)	2000
		cloro	2
		bromo	2
		SO ₄ H ₂ libre	100

Dosaje de Ca en presencia de murexida
 Concentración en iones extraños expresado en partes por millón que no turban el dosaje.-

Es bien cierto que, en el dosaje del ión calcio con la murexida en presencia de soda, una gran parte de iones moleculares son precipitados al estado de hidróxidos y que una separación de estos hidróxidos puede ser rápidamente realizada.

De cualquier modo: la cuestión de los iones interferentes está aún en estudio, pero los resultados obtenidos con la murexida son muy estimulantes.

C. Aplicaciones

Sobre la determinación de la dureza de agua, es principalmente que se han publicado los trabajos más importantes. Sobre este asunto, los primeros en fecha son indudablemente Schwarzenbach y Biedermann (25). Los puntos particulares han sido precisados en los Estados Unidos por medio de hidrólogos entre los cuales se pueden citar a: Connors (26), Diehl y sus colaboradores (27), Betz y Noll (28). Ellos se han dedicado a precisar las condiciones experimentales y las interferencias de los diversos iones encontrados en las aguas tanto naturales como industriales. Ellos han modificado lige-

ramente los reactivos propuestos por Schwarzenbach, pero no parece que un acuerdo total se haya hecho entre ellos hasta que los iones molestos están presentes en proporción bastante grande.

También señalamos que Manger (29) a puesto ha punto un dosaje indirecto del ión SO_4^{2-} basado en estos mismos principios.

Otras publicaciones publican métodos de dosaje de Ca y Mg en productos farmacéuticos.

En resumen con los métodos dados es posible dosar volumétricamente la mayoría de los cationes bi y trivalentes.

Por el método acidimétrico es posible determinar un solo catión puro o en caso de mezcla su suma.

Con los indicadores de iones metálicos se puede esperar una selección más grande y la misma especificidad perfecta. Los artificios simples a poner en obra están en estudio aún en gran parte. Se puede esperar ver alargarse muy próximamente la lista de estos indicadores pero desde ahora los resultados obtenidos son sustanciales.

Bibliografía

1.- Artículos Generales.

a) Sobre los complejos en análisis.

- 1.- I.M.Kolthoff et V.A.Stenger, Volumetric Analysis, t.I, 1942; t. II, 1947, edit. Interscience Publishers, Inc., New York.

2.- Fr.Hein, **Komplexverbindungen in der anorganischen Chemie** (Angewandte Chemie, 62,1950,205).

3.- G.Schwarzenbach, **Die Ionengleichgewichte bei der Bildung von Metall komplexen** (Angewandte Chemie, 62,1950,218).

4.- E.Mahr, **Komplexverbindungen in der analytischen Chemie** (Angewandte Chemie, 62,1950,250).

5.- **b) Sobre los complejos en particular**

5.- W.Biedermann, **Die Titrations von Metallen mit Hilfe von Komplexonen** (Diss,Univ.Zurich, édit.Jak Villiger und C^{te}, Wädenswil, 1947).

6.- R.Pribil, **Use of Complexons in Chemical Analysis** (Coll. Czech. Chem. Com., 14,1949,320).

7.- G.Schwarzenbach, **Die Analytische anwendung der Trilone** (Angewandte Chemie, 63,1951,28).

8.- P.Souchay et M.Graizon, **Applications analytiques et industrielles der remarquables propriétés complexantes des trilons** (Bull. Soc. Chim., 1952,34).

2.- Métodos acidimétricos

a) **Ácido amino triacético (complejante I)**

11.- G.Schwarzenbach, E.Kampitsch et R.Steiner, **Helv. Chim. Acta**, 28,1945, 828.

12.- G.Schwarzenbach et W.Biedermann, **Helv. Chim. Acta**, 31, 1948, 331.

b) **Ácido etilen diamino tetraacético (complejante II y III).**

- 13.- G.Schwarzenbach et H.Ackermann, Helv. Chim. Acta, 30, 1947,1798.
- 14.- G.Schwarzenbach et W.Biedermann, Helv. Chim. Acta, 31, 1948,459.

3.- Indicadores de iones metálicos

a) Negro eriochrome T

- 16.- C.Brenner, Helv. Chim., Acta, 3,1920,90.
- 17.- G.Schwarzenbach et Biedermann, Helv. Chim. Acta, 31,1948 678. - W.Biedermann et G.Schwarzenbach, Chimie, 2,1948, 56.

b) Murexida

- 18.- F.Beilstein, A., 107, 1858, 186.
- 19.- Hartley, W.Noel, J.Chem. Soc. (London) 87,1905,1791.
- 20.- G.Schwarzenbach, W.Biedermann et F.Bangeter, Helv.Chim. Acta 29, 1946,811.
G.Schwarzenbach et H.Gysling, Helv. Chim. Acta 32,1949, 1314.

c) Indicadores diversos

- 21.- G.Schwarzenbach et A.Willi, Helv. Chim. Acta, 34,1951,528

Aplicaciones

A. Dureza de agua

- 1º) - Por titulación acidimétrica.

- 22.- G.Schwarzenbach, W.Biedermann et F.Bangerter, *Helv. Chim. Acta*, 29, 1946, 811.
- 23.- W.Biedermann, Die Titration von Metallen mit Hilfe von Komplexonen (Diss. Univ. Zurich, Édit, Jak Villiger et C^{te}, Wädenswil, 1947).
- 24.- F.L.Hahn, *Anal. Chim. Acta*, 4, 1950, 583.
- 25) - Por los indicadores de iones metálicos
- 25.- G.Schwarzenbach, W.Biedermann et F.Bangerter, *Helv. Chim. Acta*, 29, 1946, 811.
- 26.- J.J.Connors, *J. Am. Water Works Assoc.*, 42, 1950, 33.
- 27.- H.Diehl, C.A.Goetz et C.C.Hach, *J. Am. Water Works Assoc.* 42, 1950, 40.
- 28.- J.D.Betz et C.A.Noll, *J. Am. Water Works Assoc.*, 42, 1950, 49
- 29.- J.R.Munger, R.W.Nipplers et R.S.Ingols, *Anal. Chem.*, 22, 1950, 1455.
- 30.- C.A.Goetz, T.C.Loomis et H.Diehl, *Anal. Chem.*, 22, 1950, 798.-
-

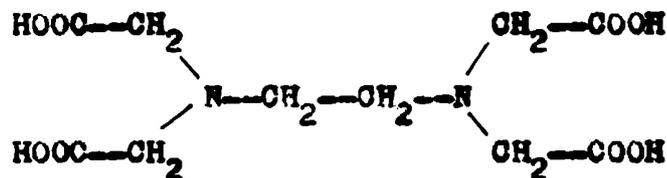
Titulación de dureza total con Versenate

(por Harvey Diehl, Charles A. Goetz and Clifford C. Haeh)

Schwarzenbach de la Universidad de Zurich ha relatado en *Helvetica Chimica Acta* de 1947 y 1948 los resultados de brillantes investigaciones de iones complejos de alcalino-térreos y otros metales con ácido aminopolicarboxílicos. Acido iminotriacético, ácido etilendiaminotetracético y otros ácidos aminopolicarboxílicos forman compuestos muy levemente ionizados con los alcalino-térreos y la formación de estos compuestos puede ser empleada para la determinación de calcio, magnesio y otros metales bivalentes. El problema de la determinación del punto final en esta titulación, fué aclarada por Biedermann y Schwarzenbach (1) de extraordinaria manera usando un colorante el cual también tiene la propiedad de formar compuestos levemente ionizados con magnesio y calcio. Para la determinación de la dureza total de agua (calcio más magnesio) el método es superior al método del jabón en exactitud y rapidez y es igual en precisión al tiempo consumido en el método de reactivo soda.

Principio del método

Una solución alcalina del ácido orgánico



(Ácido etilen-diaminotetracético) abreviado $H_4\text{Ver}$, es caracte-

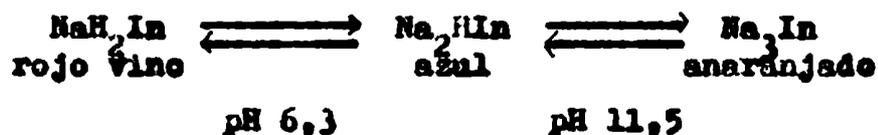
rizado con el nombre común de "versene". Este ácido forma una serie de sales en la neutralización con HONa , una de las cuales, versenate disodio dihidrógeno, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Ver}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, es usada en la preparación de la solución standard para la titulación de calcio y magnesio. La determinación de la dureza total de agua está basada en la formación de compuestos estables, levemente ionizados de calcio y magnesio.



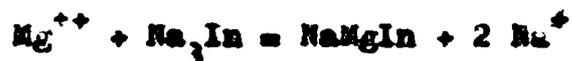
El compuesto de magnesio es algo más disociado que el compuesto de calcio. Schwarzenbach (2) ha determinado las constantes de formación de estos compuestos; para el compuesto de calcio es $3,0 \times 10^{10}$ y para el de magnesio de $5,0 \times 10^8$.

El colorante empleado como indicador, negro erichrome T, forma un compuesto soluble, rojo vino con magnesio. Este compuesto es ionizado en mayor grado que el compuesto magnesio-versenate. Durante la titulación, el versenate se combina primero con los iones calcio libres, luego con los iones magnesio libres, y finalmente, al punto final con los iones magnesio combinados con el colorante, cambiando el color de rojo vino a azul.

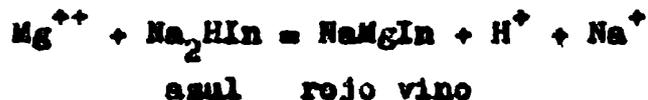
De varios colorantes azo hidroxilados que tienen la propiedad de formar compuestos coloreados con magnesio, el mejor parece ser el negro erichrome T conocido como F 241. El F 241 es un ácido tribásico (abreviado H_3In), el cual funciona como un indicador ácido-base con dos cambios de coloración:



De estas tres formas, solo Na_3In forma compuestos coloreados no ionizados con los alcalino-térreos.



La constante de equilibrio para esta reacción, $K = 10^7$, es tan grande que en el rango de pH 8 a 10 forma el azul, Na_2HIn que es convertido directamente en el compuesto de magnesio rojo vino.



Añadiendo versenate de sodio a dicha solución, el magnesio es extraído del compuesto NaMgIn y el color vuelve bruscamente de rojo vino a azul.

Aunque el calcio forma un compuesto coloreado con el negro eriochrome T relativamente débil, soluble, el compuesto no es suficientemente estable para servir como indicador en la titulación de calcio con versenate de sodio. Puesto que el magnesio es necesario para funcionar con el indicador, es añadido a la solución de versenate de sodio, siendo previamente standardizado. Mientras la titulación progresa, el magnesio es introducido sin necesitar corrección el blanco.

Un valor de pH alrededor de 10 es mejor para la

titulación. Si el pH es mayor puede precipitar hidróxido de magnesio y a pH menores no está ligado bastante fuertemente para que el colorante de el compuesto deseado rojovino. A valores de pH más altos, el indicador cambia a su forma más alcalina (anaranjado), y el punto final azul no es obtenido. Hidróxidos y gran cantidad de carbonatos llevan el pH alrededor de 10,5, interfiriendo por esta razón, pero el ión bicarbonato y el ión carbonato, por si mismos, así como los iones de otros ácidos débiles no tienen efecto en el punto final. Un pH de 10 puede ser fácilmente obtenido y mantenido por la adición de suficiente cantidad de bufer amonio-cloruro de amonio. A pH 10 el cambio de color es claro y puede obtenerse rápidamente, siendo una gran ventaja sobre el método del jabón. No necesita calentarse como en el método de reactivo soda y la titulación es rápida.

Biedermann y Schwarzenbach establecieron que han podido determinar la dureza total de agua con una exactitud cerca de 2 ppm. Los autores han confirmado esta declaración en aguas con durezas variando hasta 1400 ppm. El punto final es claro aún con aguas de extrema dureza, una situación en la cual el método del jabón por lo general falla y es necesario repetir el ensayo con el método del reactivo soda usando una pequeña muestra. El método es fácilmente dominado por operadores inexpertos y es aplicable a mezclas de calcio y magnesio en cualquier relación. La temperatura del agua por encima de los límites normalmente encontrados, no tiene efecto en la titulación.

Como usualmente, carbonato de calcio puro es usa-

de como standard de referencia, la solución puede ser preparada por disolución de una cantidad pesada en ácido clorhídrico y diluido a un dado volumen. Usando varios volúmenes de solución standard, los resultados obtenidos para el carbonato de calcio titulado con la solución standard de versenate de sodio son idénticos dentro de concentraciones de una parte en 500. La solución de versenate de sodio es suficientemente estable si está preparada como se describe después.

Uno de los rasgos interesantes de esta titulación es que no es afectada por considerables concentración de sal. De este modo los autores han establecido que la titulación es clara y exacta en soluciones conteniendo hasta 15 g. de cloruro de sodio por 100 ml.

Las espumas causadas por detergentes no tienen efecto en la titulación; algunos detergentes usados en los ensayos contenían ellos mismos calcio el cual fué titulado.

El agua que contiene exceso de polifosfatos no puede ser satisfactoriamente titulada.

Interferencias

El método del versenate da resultados satisfactorios en muchas aguas, pero en algunas muestras ocasionales el punto final era turbio. Que el cobre era una causa de dificultades fué primero señalado a los autores por J.J. Connors, East Bay Municipal Utility Dist., Calif., que sugirió la adición de metiliditiocarbamato de sodio, el cual remueve el cobre por precipitación. Estudios de los efectos

del cobre y otros iones metálicos en el punto final muestra que las dificultades pueden ser eliminadas por la adición al indicador de varias sustancias las cuales forman iones complejos o precipitan con los metales interferentes.

Cg. - La adición de dietilditocarbamato a la solución del indicador elimina la interferencia del cobre; esta solución es designada como indicador B. Es desaconsejable añadir dietilditocarbamato a la solución buffer pues él entonces reacciona con cualquier hierro presente dando una indeseable cantidad de color marrón a la solución. Añadiendo después el buffer el hierro precipita como $Fe(OH)_3$ y el dietilditocarbamato es inocuo. Para aguas conteniendo hasta 5 ppm de cobre es recomendado entonces el indicador modificado (Procedimiento alternativo 1, abajo descripto). Si están presentes más de 5 ppm de cobre, es necesario añadir cianuro de sodio para complejar el cobre (Procedimiento alternativo 2, abajo descripto).

Mn. - La presencia de manganeso como dióxido de manganeso o manganato induce al punto final, con negro eriochrome T, a ser algo vago. La reducción de estas sustancias con cloruro de hidroxilamonio evita esta dificultad. Es recomendado que el reactivo sea añadido al indicador. La mezcla de negro eriochrome T y cloruro de hidroxilamonio, designado como indicador A, puede ser usado en aguas conteniendo hasta 0,5 ppm de Cu.

Fe. - Interferencia de hierro es encontrada si el indicador es añadido antes que el buffer; el hierro se combina con el indicador para dar un tinte rosado al color azul

más allá del punto final. Si el hierro está en cantidades hasta 20 ppm no interfiere. El buffer precipita $\text{Fe}(\text{OH})_3$ y cualquier hierro disuelto tiende a ser reducido por la hidroxilamina. Si el hierro está presente en más de 20 ppm, un tenue tinte rosa puede quedar en el color azul al punto final y entonces es necesario añadir CNNa (Proceder alternativo 2, abajo descripto).

Al. - Si el aluminio está en cantidades excediendo 20 ppm causa un punto final vago. La adición de tartrato de sodio elimina este inconveniente.

Co y Ni. Ambos interfieren seriamente con el punto final. La única forma efectiva de vencer esta dificultad es añadiendo CNNa (Procedimiento alternativo 2).

Buffer. El buffer $\text{OHNH}_4\text{-ClNH}_4$ recomendado más abajo ha resultado satisfactorio. La cantidad de buffer añadida no es escrupulosa, un exceso no tiene efecto perjudicial. Buffers de HONa y borato sodio y buffers de HCNa-3Na_2 y buffers mezclas de borato y sulfuro han sido probados y tuvieron inconvenientes; siendo el punto final extenso y vago. La cantidad de dichos buffers añadida es crítica, una cantidad impropia da valores de pH demasiado altos o demasiado bajos. Los sulfuros alcalinos son oxidados por el aire y no cumplen bien. Con su adición el hierro precipita por los sulfuros y el precipitado azul-negro interfiere con el punto final. Como el hierro está frecuentemente presente un buffers conteniendo sulfuro no es recomendado.

Reactivos

Son usados los siguientes reactivos:

- 1.- Solución buffer. Mezclar 67,5 g. de ClNH_4 con 570 ml. de HONH_4 concentrado y diluir a alrededor de 1 litro.
- 2.- Indicadores

Indicador A.- Mezclar 0,5 g. de negro eriochrome T (F 241) con 4,5 g. de cloruro de hidroxilamonio; disolver 5 g. de esta mezcla de 100 ml de alcohol.

Indicador B.- Mezclar 0,5 g. de negro eriochrome T (F 241) con 4,5 g. de dietilditioicarbamato seco; disolver 5 g. de esta mezcla en 100 ml. de alcohol.

Indicador C.- Disolver 0,50 g. de negro eriochrome T (F 241) en 100 ml. de alcohol.
- 3.- Solución standard de Cl_2Ca . Disolver 1000 g. de CO_3Ca puro (el CO_3Ca que reúne la A.C.Specification no es satisfactorio. Es necesario una purificación mayor) en un poco de ácido clorhídrico diluido. Diluir a exactamente un litro y guardar en un frasco de vidrio tapado; 1 ml. de esta solución es equivalente a 1000 ag. de CO_3Ca .
- 4.- Solución standard de versenate de sodio. Disolver 4,00 g. de versenate disodio dihidrogenado y 0,1 g. de $\text{Cl}_2\text{Mg} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 750 ml. de agua. pipetear 25, 0ml de solución standard de Cl_2Ca , añadir alrededor 1,6 ml. de solución buffer y 4 gotas de indicador. Titular con la solución standard de versenate de sodio según el proce-

dimiente descrito más abajo para la determinación de durezas de agua. La solución de versenate de sodio preparada como indica arriba debe ser equivalente a más de 1,0 mg. de CO_3Ca por ml. Usando el volumen requerido por la titulación y el volumen total de la solución standard calcular el volumen a la cual la solución debe ser diluida para hacer equivalente a 1,0 mg. de CO_3Ca por ml. Hacer la solución requerida, mezclar bien y restandardizar.

Procedimiento para dureza total

Para la determinación de la dureza total de muchas aguas, debe ser empleado el siguiente proceder de rutina. Ocasionalmente pueden estar presentes iones interferentes (Cu alrededor de 0,3 ppm. o grandes cantidades de Fe o Mn) los cuales causan un punto final vago; debiendo usarse en este caso el proceder alternativo 1. En raras ocasiones cuando el proceder alternativo 1 deja de dar un buen punto final (porque excepcionalmente hay grandes cantidades de Cu, Fe o Mn) puede ser usado el proceder alternativo 2, el cual usa CNNa para complejar varios iones de metales interferentes.

Procedimiento de rutina

Pipetear 50 ml. de muestra de agua en un erlenmeyer de 250 ml. Añadir alrededor de 1 ml. de solución Buffer y mezclar por agitación. Añadir 4 gotas de Indicador A. Titular con solución standard de versenate de sodio. Al punto final la solución debe ser clara y debe cambiar de

rojo-vino a azul pero sin tinte remanente rojizo. Con luz natural el color más allá del punto final es azul cielo, pero debajo de una lámpara con filamento de tungsteno es casi incoloro.

Multiplicar el número de mililitros de solución standard de versenate de sodio por 20 para obtener la dureza total como ppm. de CO_3Ca . El magnesio añadido a la solución standard de versenate de sodio es explicado en la standardización.

La precisión de la determinación es mayor cuando el volumen de solución standard se aproxima al volumen máximo, que puede ser entregado por la bureta. El volumen de la muestra puede ser ajustada para aprovecharse de esta condición. Así, para aguas conteniendo una dureza total menor de 500 ppm, se usa una muestra de 100,0 ml; para aguas de alrededor de 1000 ppm, usar una muestra de 25,0 ml. El factor usado para calcular los resultados debe ser cambiado según el caso: muestra de 100,0 ml, multiplicar por 10; muestra de 50,0 ml. multiplicar por 20; muestra de 25,0 ml. multiplicar por 40. Una pequeña muestra de un agua ^{muy} dura debe ser diluida a aproximadamente 100 ml. con agua destilada antes de añadir el buffer; de otro modo puede ser precipitado (OH) 2 Mg al agregar el buffer y se obtiene resultados erróneos.

Proceder alternativo 1.

Pipetear 50 ml. de agua en un erlenmeyer de 250 ml. Añadir alrededor de 1 ml. de la solución buffer y ~~seg~~

clar la solución agitando. Añadir 4 gotas de Indicador B y 4 gotas de Indicador A. Titular con la solución standard de versenate de sodio. Al punto final la solución debe ser clara y debe cambiar de rojo-vino a azul claro o verde. En la segunda titulación modificar la cantidad de muestra como se trata en el párrafo "Procedimiento de rutina". Calcular los resultados como se describe allí.

Proceder alternativo 2.

Pipetear 50 ml. de agua en un erlenmeyer de 250 ml. Añadir alrededor de 5 ml. de la solución buffer y mezclar la solución por agitación. Añadir alrededor de 0,25 g. de cianuro de sodio, mezclar bien y añadir 4 gotas de Indicador A. Titular con solución standard de versenate de sodio. El color en el punto final debe cambiar de rojo-vino a azul puro. En la segunda titulación modificar la cantidad de muestra como se trata en el párrafo "Procedimiento de rutina". Calcular los resultados como se describe allí.

El volumen extra de solución buffer (5 ml. antes que 1 ml.) estipulado en este proceder es necesario para neutralizar la alcalinidad adicional resultante de la hidrólisis del CNNa añadido.

En la tabla siguiente podemos ver la concentración de los iones interferentes permitida en la titulación.

ión	Buffer e indicador			
	NH 4 OH 4 -NH 4 Cl 4	NH 4 OH 4 -NH 4 Cl 4	NH 4 OH 4 -NH 4 Cl 4 CNNa	NH 4 OH 4 -NH 4 Cl 4 SNa ₂
	Indicador A	Indicador B	Indicador A	Indicador A
ppm				
Fe ⁺⁺⁺	20	20	más de 30	5
Al ⁺⁺⁺	20	20	20	20
Cu ⁺⁺	0,3	5	más de 30	5
Mn ⁺⁺	*	*	*	*
Mn como MnO ₄ K	20	2	20	20
Zn ⁺⁺	*	*	*	*
Cd ⁺⁺	*	*	*	*
Ni ⁺⁺	falla	falla	más de 20	falla
Co ⁺⁺	falla	falla	más de 20	falla
Cl ⁻	+	+	+	+
SO ₄ ⁼	+	+	+	+
PO ₄ ⁼	+	+	+	+

* No interfiere; titulado como dureza
+ No interfiere

Agua poco dura

Extendiendo la titulación con versenate a aguas de muy poca dureza, poco se gana usando una solución de versenate de sodio de baja concentración, pero la cantidad de muestra puede ser aumentada con beneficio. En el siguiente proceder se toma una muestra grande y se hace una titulación preliminar para eliminar los efectos de Ca y/o Mg en la solución buffer y para introducir en la solución suficiente magnesio para hacer funcionar el indicador.

Procedimiento para aguas de baja dureza. (menos de 5 ppm).- En un erlenmeyer de 2 litros poner alrededor de 50 ml. de agua destilada y añadir alrededor de 5 ml. de solución standard de Cl_2Ca . Añadir alrededor de 10 ml. de solución buffer y 4 gotas de indicador A. Titular exactamente al punto final con la solución standard de versenate de sodio. Añadir 500 ml del agua poco dura y un adicional de 1,5 ml. de indicador A. Llenar de nuevo la bureta y titular otra vez al punto final azul. Multiplicar el volumen de versenate de sodio usado en la segunda titulación por 2 para obtener la dureza total en ppm de CO_3Ca .

Determinación de Ca y Mg separados

Ningún método volumétrico directo bueno para determinar Ca en presencia de Mg o Mg en presencia de Ca es conocido al presente. El método del versenate puede ser unido con la separación del calcio con oxalato dando valores bastante satisfactorios para calcio y magnesio separadamente. En el siguiente proceder, el calcio es precipitado como oxalato y el magnesio es determinado en el filtrado por titulación con versenate de sodio. El calcio es determinado entonces restando el magnesio de la suma de calcio más magnesio determinado haciendo una segunda titulación con versenate de sodio. La tabla siguiente muestra los resultados obtenidos en aguas sintéticas preparadas por disolución de piedra caliza.

Determinación separada de calcio y magnesio.

Muestra Nº	Mg		Ca		Dureza total	
	presente	hallado	presente	hallado	presente	hallado
	ppm como CaCO_3					
1	21	20	969	964	990	984
2	543	541	537	538	1080	1079
3	673	677	333	330	1006	1007
4	338	337	667	668	1005	1005

Procedimiento para dureza de magnesio

Preparar una solución buffer-oxalato como sigue: a 3,5 g. de CaCl_2 y 1,5 g. de oxalato de amonio añadir 3,5 ml. de HONH_4 y suficiente agua hasta alrededor de 250 ml. El oxalato disuélvase lentamente; un poco de oxalato no disuelto puede ser suspendido por agitación antes del uso.

Pipetear 100,0 ml. del agua en un erlenmeyer de 500 ml. También pipetear exactamente 25,0 ml. de la solución buffer-oxalato en el erlenmeyer. Como resultado el agua tiene que tener un valor de pH de 7,5-8 y el calcio estar precipitado como oxalato. Agitar bien y filtrar a través de un papel de filtro seco, doble, de textura fina, por ejemplo Whatman N° 42. Recibir el filtrado en un erlenmeyer seco. Pipetear 50,0 ml. del filtrado en un erlenmeyer de 250 ml. añadir alrededor de 10 ml. de solución buffer corriente y proceder como en la titulación usual de dureza de agua.

Multiplícar el número de ml. de solución estándar de versenate de sodio usada por 25 (no por 20 por la dilución de la muestra por la solución buffer-oxalato) para obtener el Mg como una cantidad de CO_3Ca en ppm. Restar al valor de la dureza total para obtener la dureza de calcio.

Si la dureza total es mayor que 800 ppm, es aconsejable usar solo 500 ml. de agua y entonces añadir 50 ml. de agua destilada y 25,0 ml. de solución buffer oxalato. Un factor de 50 es usado para calcular la dureza de magnesio.

Bibliografía

- 1.- Biedermann, W. & Schwarzenbach, G. The complexometric Titration of Alkaline Earths and Some Other Metals With Eriochrome Black T. *Chimia*, 2:56 (1948).
 - 2.- Schwarzenbach, G; Biedermann, W. & Bangerter, F. Complexons VI. New Simple Titrating Methods for Determining the Hardness of Water. *Helv. Chim. Acta* 31:1029 (1948).
-

**Determinación de dureza total por titulación
directa colorimétrica**

By J.D.Betz and C.A.Noll

La dureza total del agua es más comunmente determinada por el método del jabón descrito en Standard Methods (1). El método del jabón está sujeto a ciertas interferencias las cuales producen resultados inexactos. En suma, a menos que la técnica sea empleada por el operador con cuidado, los resultados pueden ser considerables en error. A pesar de estas desventajas, la relativa simplicidad del método del jabón en comparación con otros explica su uso difundido.

El método de determinación de dureza descrito en este capítulo es más exacto que el método del jabón y es considerablemente más rápido. Un claro cambio de color indica el punto final, y los iones comúnmente presentes en el agua no interfieren en el ensayo. Valores de dureza hasta 1200 ppm pueden ser titulados sin dilución de la muestra y es exacto dentro de aproximadamente 2%. Altos valores de dureza pueden también ser determinados sin dilución de la muestra usando una solución tituladora más concentrada. Con una muestra grande y una microbureta pueden ser determinadas durezas en el rango de 0,0-2,00 ppm, dentro de 0,1 ppm.

El método está basado en la titulación de la muestra de agua con un agente orgánico el cual forma complejos no ionizados con calcio y magnesio. La titulación se hace en presencia de un indicador el cual es rojo cuando hay

iones calcio y magnesio y azul en su ausencia. Una solución buffer es añadida a la solución que se va a titular para ajustar el pH a alrededor de 10.

Preparación de reactivos

Solución buffer.- Solución 1- Disolver 40 g. de tetraborato de sodio ep. en aproximadamente 800 ml. de agua destilada.

Solución 2 - Disolver 10 g. de HONa ep. y 5 g. SNa_2 ep. en 100 ml. de agua destilada. Cuando se enfría mezclar las dos soluciones y llevar a 1 litro con agua destilada.

La solución buffer debe ser guardada tapada con tapón cuando no se usa.

Solución tituladora.- Disolver 4,0 g. de etilendiamino tetracético disodio dihidratado en aproximadamente 800 ml. de agua destilada. Añadir 0,86 g. de HONa ep.. Ajustar comparando con solución estándar de Cl_2Ca hasta que 1 ml. sea igual a 1 mg. como CO_3Ca .

Solución indicadora.- A 30 ml. de agua destilada añadir 1,0 ml. de solución de CO_3Na_2 N. Añadir 1,0 g. de negro eriocrome T y mezclar. Llevar a 100 ml. con isopropanol 99%.

Procedimiento para el ensayo

Medir 50 ml. de la muestra y transferir a un erlenmeyer. Añadir 0,5 ml. de solución buffer y agitar. Añadir 4 o 6 gotas de indicador y agitar. Si hay dureza, la muestra

tra debe volverse roja.

Añadir la solución tituladora lentamente de la bureta con agitación continua. El punto final es cuando el color cambia de rojo a azul. Cuando se aproxima el punto final, la muestra empieza a mostrar alguna coloración azul, pero un definido tinte rojizo puede ser observado todavía. El punto final es cuando desaparece este tinte rojizo. La adición de más solución tituladora no debe mostrar ningún cambio de color.

En dicho proceder, la solución tituladora debe ser añadida lentamente, lo que hace que el punto final sea claro y rápido. Para determinaciones de dureza de rutina, se sugiere que 50 ml. de la muestra sean medidos, pero solo aproximadamente 40-45 ml. sean añadidos al erlenmeyer, luego se añade el buffer y el indicador como se describe arriba y rápidamente se titula al punto final. Entonces se añade la porción remanente de la muestra. La dureza presente en este remanente de muestra debe volver el contenido del erlenmeyer rojo. Continuar titulado lentamente hasta el punto final.

Resultados del ensayo

Los resultados del ensayo pueden ser calculados de acuerdo a la fórmula: $\text{ppm dureza como } \text{CO}_3\text{Ca} = \frac{\text{ml sol. tituladora} \times 100}{\text{ml. de muestra}}$

Usando una muestra de 50 ml. la dureza en ppm de CO_3Ca es igual al número de ml. de solución tituladora requerida multiplicada por 20.

La tabla 1 ilustra los datos obtenidos usando este método de titulación directa en solución de calcio puro y magnesio conteniendo durezas variables. Como puede observarse, con solución de calcio con dureza hasta 500 ppm, resultados absolutamente exactos fueron obtenidos y el punto final fué completamente claro. Similar exactitud fué obtenida en solución de magnesio puro, excepto para el valor de 500 ppm. A altas concentraciones de magnesio, la alcalinidad introducida por la solución buffer causa precipitación de $(OH)_2Mg$.

La tabla 2 ilustra el efecto de diversas proporciones de calcio y magnesio, ella indica que la concentración relativa de estos dos iones no tiene importancia en el ensayo. En general se ha visto que, durezas del orden de 100 ppm, la titulación puede dar valores de dureza con una diferencia de 2 ppm con respecto a los valores del método gravimétrico con precauciones no extraordinarias por parte del operador.

Tabla 1

Valores de dureza para soluciones de Ca puro y Mg

Ca presente	dureza hallada	Mg presente	dureza hallada
ppm como CO_3Ca			
0	0	0	0
4	5	4	6
8	8	8	9
12	12	12	13
20	22	20	20
50	50	50	50
100	100	100	100
200	200	200	196
500	498	500	480

Tabla 2

Efecto de proporciones diversas de Ca y Mg

Presentes en solución			dureza total hallada
Mg	Ca	Dureza total	
ppm como CO_3Ca			
0	100	100	100
2	98	100	100
4	96	100	102
6	94	100	100
8	92	100	102
10	90	100	100
20	80	100	102
40	60	100	100
50	50	100	100
60	40	100	100
80	20	100	98
90	10	100	100
92	8	100	102
94	6	100	100
96	4	100	102
98	2	100	100
100	0	100	100

La tabla 3 muestra que valores de dureza altos pueden ser titulados sin dilución de la muestra. Usando la concentración standard de la solución titulante (1 ml. equivale a 1 mg de CO_3Ca), el valor más alto que pueda ser titulado sin dilución de la muestra es aproximadamente 1200 ppm. Arriba de esta cifra el punto final no es claro a causa del gran volumen de solución titulante (60 ml.) que ha sido añadido. Usando soluciones titulantes de alta concentración, valores

de dureza de 2000 p.p.m pueden ser exactamente determinadas sin dilución de la muestra. Con el uso del método del jabón, una dureza de aproximadamente 140 p.p.m es el límite máximo el cual puede ser tolerado sin dilución, según a métodos standard.

Tabla 3

Efecto de durezas altas sin dilución

Dureza * Presente	solución titulante -1 ml. equivale a :		
	1 ml. CO_3Ca	5 mg. CO_3Ca	10 mg CO_3Ca
200	196	200	200
1000	1000	1000	990
1100	1092	1092	1100
1200	1216	1200	1200
1400		1400	1400
1600		1610	1600
1800		1800	1800
2000		2000	2000

* 80% Ca, 20% Mg

Interferencia iónica

Han sido investigados los iones interferentes como muestra la tabla 4. Los valores indican la máxima concentración de posible iones interfiriendo investigados. Es probable, que concentraciones más altas que las mostradas por la tabla 4 puedan ser toleradas sin interferencia.

No hubo interferencia con los resultados del ensayo con el uso de concentraciones de polifosfato de 25 p.p.m; aunque resultados de dureza ligeramente bajos han sido encon-

trados con una concentración de polifosfato de 50 ppm. La simultánea presencia de 2,5 ppm de hierro como Fe y 10 ppm de polifosfato no produce interferencia. Concentraciones de HONa en más de 300 ppm como NaOH crean dificultad en el punto final. Se recomienda dilución de la muestra cuando la concentración de HONa exceda 300 ppm. No interfiere en los resultados la presencia de 1,0 ppm de manganeso con Mn. Altas concentraciones de Mn no interfieren con el punto final usando la solución buffer recomendada, pero se suman a las durezas indicadas, como muestra la tabla 5. Por supuesto, concentraciones altas de manganeso no son usuales.

Tabla 4

Inmunidad de interferencia iónica

Ión	Cantidad empleada sin interferencia
	PPM
Cobre (Cu^{++})	10
Hierro (Fe^{+++})	20
Hierro (Fe^{++})	20
Zinc (Zn^{++})	10
Plomo (Pb^{++})	10
Estaño (Sn^{++})	10
Estaño (Sn^{+++})	10
Aluminio (Al^{+++})	10
Cloruro (Cl^-)	10000
Sulfato (SO_4)	10000
Sulfito (SO_3)	500
Cromato (CrO_4)	500
Fosfato (PO_4)	100
Nitrito (NO_2)	500

Nitrato (NO_3^-)	500
Carbonato (CO_3^{--})	1000
Silicato (SiO_2^-)	200
Acido mineral libre (ClH)	100
Tanino de quebracho	200

Tabla 5

Interferencia de Mn

Presente		Hallado	
dureza como CO_3Ca *	manganeso como Mn	dureza como CO_3Ca	punto final
	ppm		
100	0,0	100	claro
100	1,0	100	claro
100	2,0	102	claro
100	3,0	106	claro
100	10,0	112	claro

* 80% Ca, 20% Mg

Ha sido determinado que la temperatura de la muestra no tiene efecto en la exactitud del ensayo en el orden de $10^\circ\text{--}40^\circ$, aunque el punto final fué lento a 10°C .

Una definida superioridad de este método de titulación directa, es que el efecto de iones interferentes puede ser eliminado por dilución de la muestra. Usuales interferencias son eliminadas tomando una muestra más pequeña,

tal como 25 ml. y diluir a 50 ml. con agua destilada. Si se supone que hay iones interferentes, es mejor standardizar en el uso de una muestra diluida.

Aunque las concentraciones iónicas mostradas en la tabla 4 no interfieren con el ensayo y en su presencia muestra un valor correcto de dureza total, el color en el punto final no cambia siempre de rojo a azul. Por ejemplo, la presencia de cromato imparte un color amarillo a la muestra, así que el punto final en vez de azul es verde. El punto final exacto es tomado en cada ensayo como la desaparición del tinte rojo de la muestra.

La tabla 6 da una comparación entre determinaciones gravimétricas de durezas de varias aguas y el método de titulación directa. Valores de dureza obtenidos por el método del jabón son también incluidos. Muchas de las investigaciones del método de titulación directa fueron hechas en soluciones puras de calcio y magnesio standardizadas gravimétricamente, hasta que esta comprobación fué hecha en varias aguas típicas como puede ser observado en la tabla 6, se manifestó un acuerdo íntimo entre la gravimetría y los valores de titulación directa.

Tabla 6

Comprobación gravimétrica en varias aguas.-

	Agua fresca		Agua de alimentación de calderas		Agua de caldera	
	ppm					
Calcio como CO_3Ca (gravimétrico)	196	80	29	12,5	0	0
Magnesio como CO_3Ca (gravimétrico)	54	38	16	7,5	0	6
Dureza total como CO_3Ca						
gravimétrico	250	118	45	20	0	6
jabón	216	100	48	20	0	0
titulación	254	118	44	20	0	5
Alcalinidad como CO_3Ca						
fenolftaleína	8	0	0	0	976	132
naranja de metilo	96	68	36	40	448	184
Sulfato como SO_4	80	72	36	12	480	560
Cloruro como Cl	95	35	9	4	404	132
Fosfato como PO_4					40	0
Nitrato como NO_3	2,0	25	0,8	1,4	45	8
Hierro como Fe	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	1,8
Color	7	9	3	5	55	125
pH	8,3	8,1	7,4	7,0	11,3	10,3

Valores de baja dureza

El método del jabón no es suficientemente sensible para indicar pequeñas concentraciones de dureza. Con algunas modificaciones del método de titulación directa, es posible determinar con un alto grado de exactitud la dureza contenida en tales aguas.

La tabla 7 de los valores obtenidos en un orden de 0,0-2,0 ppm de dureza. Los resultados fueron obtenidos por tres operadores que no tenían conocimiento de la dureza contenida en las muestras de agua a ensayar. Debe notarse que la desviación del valor correcto nunca exceda de 0,1ppm

Tabla 7

Determinación de poca dureza.

Dureza como CO_3Ca^* -ppm			
Presente	Hallado		
	Operador A	Operador B	Operador C
0,0	0,0	0,0	0,0
0,3	0,3	0,3	0,3
0,5	0,4	0,4	0,5
0,8	0,8	0,8	0,8
1,0	0,9	0,9	0,9
1,2	1,2	1,3	1,2
1,4	1,4	1,4	1,4
1,6	1,6	1,6	1,6
1,8	1,8	1,8	1,7
2,0	2,0	2,0	2,0

* 80% Ca, 20% Mg

En la determinación de valores de baja dureza se emplea una gran muestra (100 ml.), con 1,0 ml. de solución buffer y 7 a 9 gotas de solución indicadora. Para observar mejor el punto final se recomienda que sea usada una fuente de luz incandescente durante la titulación. La solución ti-

talante es añadida muy lentamente con agitación vigorosa, de una microbureta, y es necesario que el operador posea técnica propia en su uso.

Determinación de Ca y Mg

Frecuentemente se desea separar la dureza total en los iones individuales calcio y magnesio. Puesto que la titulación directa colorimétrica mide con exactitud el contenido total de calcio y magnesio, si cualquiera de los dos iones es determinado separadamente, la concentración del ión remanente puede ser hallada restando del valor de la dureza total.

Titulación directa de Ca

Schwarzenbach, Biedermann y Bangerter (4) mencionan el uso de una solución saturada de purpurato de amonio como indicador para el calcio. Estudios de los autores han revelado que soluciones acuosas de este colorante no son estables aún por 24 horas por la oxidación del indicador. Cambio de los valores de pH del indicador al orden ácido alarga la estabilidad solo a tres días. El uso de alcoholes, glicoles y aceites como solventes y dispersantes falla para vencer la inestabilidad del indicador. Consecuentemente, el indicador seco fué dispersado en diversas mezclas secas. He vío que el cloruro de sodio era mejor para este propósito y la mezcla colorante-cloruro fué pulverizada al grado deseado de finura. En esta forma seca el indicador es estable.

La titulación directa colorimétrica de calcio está basada en la titulación de la muestra con la misma solución

usada en el ensayo de dureza total, en presencia de un indicador sensible a los iones calcio e insensible a los iones magnesio bajo las condiciones del ensayo. El punto final, el cual ocurre cuando todos los iones calcio han sido complejados, es un cambio de color de rosa-salmón a orquídea purpura.

Reactivos empleados

Son usados los siguientes reactivos:

HONa-solución 1 N

Solución titulante de dureza-la misma que para ensayo de dureza total.

Indicador de calcio - mezclar bien 0,20 g. de purpurato de amonio con 100 g. de ClNa op. Triturar la mezcla a 40-50 mallas.

Procedimiento del ensayo

Medir 50 ml. de la muestra y transferir a un erlenmeyer. Añadir 2 ml. de HONa 1 N y agitar. Añadir 0,20 g. de indicador de calcio y agitar. Si hay calcio presente debe volverse rosa-salmón.

Añadir la solución titulante lentamente de la bureta con agitación continuada. Cuando se aproxima el punto final, la muestra empieza a mostrar tinte púrpura. El punto final es el último cambio a orquídea-púrpura. Una vez que se alcanza el punto final, la solución titulante adicional no debe producir más cambio de color. El punto final debe ser siempre detenido al añadir una gota adicional de solución titulante y observar que no ocurre ningún cambio de color.

Resultados

Los resultados pueden ser calculados así:

$$\text{ppm Ca como CO}_3\text{Ca} = \frac{\text{ml. de solución titulante} \times 1000}{\text{ml. de muestra}}$$

Usando una muestra de 50 ml. el calcio en ppm como CO_3Ca es igual al número de ml. de solución titulante requerida multiplicada por 20.

La concentración relativa de calcio y magnesio fué investigada de una manera similar a la usada para los datos de la tabla 2 y no se halló influencia en la exactitud de la titulación de calcio. Valores de calcio tan altos como 1200 ppm fueron titulados sin dilución de la muestra. La exactitud del ensayo fué aproximadamente 2% del gravimétrico dentro del orden de 100-1200 ppm CO_3Ca . En el orden bajo de 0 - 5 ppm CO_3Ca la exactitud del ensayo está dentro de 1-2 ppm

Las siguientes concentraciones de iones fueron investigadas sin interferencia : Fe férrico, 20 ppm; Mn, 10 ppm ; Zn, 5 ppm; Pb 5 ppm; Al, 5 ppm; sulfato, 10000 ppm; cromato, 500 ppm; silicato, 100 ppm; carbonato, 50 ppm; bicarbonato, 500 ppm; nitrato, 500 ppm; nitrito, 500 ppm; polifosfato, 100 ppm; sulfito, 500 ppm; amoníaco como N, 2000 ppm; cloro, 2 ppm; bromo, 2 ppm; ácido mineral libre (SO_4H_2), 100 ppm y tanino de quebracho, 50 ppm. Ortofosfato puede precipitar Ca al pH del ensayo, comprobaciones gravimétricas hechas en varias aguas similares a las dadas por tabla 6, han confirmado la exactitud de la titulación

directa de calcio.

Lo mismo que la titulación directa colorimétrica de dureza, la titulación directa colorimétrica de calcio es más exacta que el método del jabón y es considerablemente más rápido. El método está sujeto a pocas interferencias y cuando están presentes pueden ser vencidas por dilución de la muestra. El método ha sido ensayado en determinaciones de rutina de calcio en aproximadamente 1500 muestras. A causa de la exactitud del método del calcio y de la dureza total, se obtiene un valor exacto de magnesio restando.

Método alternativo para magnesio

Puesto que la titulación directa colorimétrica mide el contenido total de calcio y magnesio, el magnesio puede ser determinado precipitando el calcio de la muestra con oxalato de amonio y determinando la dureza remanente, la cual es debida entonces al magnesio solamente. Este método no es tan rápido o conveniente como la titulación directa colorimétrica de calcio y está más sujeta a errores de técnica.

Procedimiento para el ensayo

Medir 75 ml. de la muestra en un erlenmeyer. Añadir 1 ml. de solución buffer para dureza. Añadir 1 ml. de oxalato de amonio 5%. Mezclar y dejar estar 5-10 minutos. Filtrar a través de papel de filtro Whatman N° 5. Descartar los primeros 5-10 ml. del filtrado.

Medir 50 ml. del filtrado y transferir a un erlenme-

yer. Añadir 4 o 6 gotas de indicador para dureza. Titular como en la titulación para dureza total.

Referencias

- 1.- Standard Methods for the Examination of Water and Sewage. A.P.H.A. & A.W.W.A., New York (9th ed., 1946).
 - 2.- Schwarzenbach, G. & Ackermann, H. Complexons V. Ethylenediaminetetracetic Acid. Helv. Chim. Acta, 30 :1798 (1947).
 - 3.- Biedermann, W. & Schwarzenbach, G. The complexometric Titration of Alkaline Earths and Some Other Metals With Eriochrome Blue T. Chimia, 2 :56 (1948).
 - 4.- Schwarzenbach, G; Biedermann W. & Bangerter, F. Complexons VI. New Simple Titrating Methods for Determining the Hardness of Water. Helv. Chim. Acta, 29 :811 (1946).
-

Titulación de calcio y magnesio en leche y
fracciones de leche con etilendiamino-tetraacético

El método de Schwarzenbach y colaboradores (4,15,16) por titulación de Ca y Mg con etilendiaminotetraacético e indicadores adecuados, ofrece la ventaja de rapidez, simplicidad y exactitud. Ha hallado amplia aplicación en la determinación de dureza de agua (2,3,8,9) y en la determinación de Ca y Mg en piedras calizas y abonos (1,6,7). Ha sido empleado con buen resultado en la titulación de calcio en sangre, suero, orina y líquido cefalorraquídeo (11,12,17). Ensayado para usar en material vegetal (6,10,18) no ha tenido enteramente buen resultado porque el ortofosfato interfiere con el punto final. En la leche, en la cual el porcentaje del calcio a fósforo es aproximadamente 1 a 1, no puede ser analizado por esta técnica sin precauciones para eliminar la interferencia de fosfato. El siguiente capítulo describe una técnica que usa un intercambiador de anión para vencer esta dificultad por remoción de fosfato.

Además varias formas de preparar muestras de leche para los análisis son descritas y muestran ser satisfactorias.

Reactivos

Columna intercambiadora de aniones. Colocar 3 gramos de la resina Duolite A-4 (Chemical Process Co., Redwood City, Calif.) en una columna de 7 x 250 mm con un depósito de 15 x 100 mm en la parte superior y un capilar de 1 x 25mm

en la parte inferior. Adherir un caño corto de goma al capilar, con agarradera. Preparar las columnas para usar mediante lavado interno con agua para estratificar la resina y eliminar aire, pasando varias porciones de acetato de Na 1 N y enjuagar con agua destilada.

HCl N/1

NO_3H concentrado,

Ac. perclórico 72%, doblemente destilado

OHNa 0,5 N y 1,5 N

Solución standard titulada. Disolver 10 g de disodio etilendiamino tetracético dihidrogenado dihidratado y 2 g de OHNa en perlas, en agua, y llevar a 1 litro. Standardizar esta solución, la cual tiene un título de aproximadamente 1,0 mg de Ca o 0,6 mg de Mg por mililitro, titulando con solución standard de cloruro de calcio y cloruro de magnesio preparadas disolviendo respectivamente CO_3Ca o Mg metálico en HCl y llevar al volumen deseado.

Indicador de calcio. Preparar el indicador por pulverización de 0,2 g de purpurato de amonio y 100 g de ClNa en una mezcla íntima (2).

Indicador de Ca y Mg. Disolver 1 g de negro eriochrome T en 30 ml. de agua destilada y 1 ml de CO_3Na_2 0,1 N, y llevar a 100 ml con propanol 2 (2).

Solución buffer 1 - Disolver 4 g de tetraborato de sodio decahidratado c.p. en aproximadamente 80 ml de agua destilada.

Solución buffer 2 - disolver 2 g de OHNa c.p. y

0,5 g de sulfuro de sodio en 10 ml. de agua destilada. Calentar. Mezclar las dos soluciones y llevar a 100 ml.

Procedimiento

Preparación de muestras. Las muestras de leche para el análisis son preparadas llevando a cenizas, por digestión húmeda, o por precipitación ácida de la caseína.

El método que prepara las muestras llevando a cenizas lo hace evaporando a sequedad en baño maría 5 ml. de muestra y luego incinerando en mufla a 600° durante la noche. La ceniza se humedece con un poco de agua destilada disuelta con 1 ml. de HCl 1N y transferida a un erlenmeyer de 50 ml. y llevada a volúmen.

En el método por digestión húmeda 5 ml. de muestra es digerida en un Kjeldall con 5 ml. de NO_3H concentrado hasta desaparición de humo marrón. Luego se enfría y añade 2 ml. de ácido perclórico 72% y se continúa la digestión hasta que aparezcan humos blancos pesados. Después se pasa a un erlenmeyer y se lleva a volúmen.

Utilizando el método de precipitación ácida de la caseína se obtiene un filtrado con contenido máximo de calcio. La muestra por este método se prepara llevando 10 ml. de leche a un erlenmeyer de 100 ml. y diluyendo con 20 ml. de agua destilada, luego se agrega 2 ml. de HCl N y se deja estar 10 minutos después de los cuales se añade 2,5 ml. de OHNa 0,5 N. El ácido disuelve las sales de calcio coloidal y dispersa la

caseína en el lado ácido de su punto isoelectrico. La adición de álcali lleva el pH a 4-4,1 y entonces precipita la caseína y el calcio queda en solución. Se filtra y lleva a volúmen. El filtrado debe ser agua clara.

También se han hecho determinaciones en cuajada de suero y en leche dializada. El suero es preparado tratando 500 ml. de leche desnatada a 35°C con 0,5 ml. de extracto cuajada comercial. Luego de 20 minutos la cuajada compacta es cortada en pequeños cubos y el suero exudado por sín-tesis es recogido y filtrado.

Intercambiador de anión. Una parte alícuota (usualmente 10 ml) de solución de leche preparada como antecede es pasada a través de una columna intercambiadora seguida por 2 porciones de 10 ml. de agua destilada para lavar la columna.

Determinación de calcio. A la parte alícuota que ha pasado por la columna intercambiadora se añade suficiente (1-2 ml) OHNa 1,5 N para llevar el pH alrededor de 10 determinado con papel indicador Universal. Luego se añade un cucharón (0,2 g) del indicador de calcio y se titula agitando, con solución de etilen-diamino-tetracético a color púrpura que no cambia añadiendo otra gota de reactivo.

Determinación de calcio y magnesio. A una parte alícuota que ha pasado por la columna intercambiadora se añade 0,5 ml de buffer borato y si es necesario suficiente OHNa 1,5 N (usualmente 1-2 gotas) para llevar el pH entre 8 y 10 comprobado con papel indicador Universal. Luego se

añade 3 gotas de solución de negro ericeroe y se titula con solución de etilen-diamino-tetracético, agitando, hasta que el color cambie permanentemente de rosa a azul.

Método standard usado para comparación. El calcio se compara determinándolo por el método de oxalato-permanganato (13) y el magnesio por el método del fosfato amonico magnésico (5) ligeramente modificado en el que la precipitación del fosfato amonico magnésico se realiza en 15 tubos de centrifuga y el precipitado se recoge y lava por la técnica descrita por Pynes (14). El fósforo se determina por la técnica de Fiske-Subarrow (13).

Resultados

Se comprobó que el intercambiador de anión removía cuantitativamente el fósforo contenido en la leche, por lo cual este método podía ser aplicado.

Los tres métodos de preparar las muestras para la titulación producen resultados comparables y que además concuerdan satisfactoriamente con el método de oxalato-permanganato en muestra de ceniza de leche.

Tabla I. Análisis de Ca en leches
mg de Ca por 100 ml de leche

<u>Oxalato-MnO₄K</u>	<u>Método por titulación</u>		
cenizas	cenizas	digestión húmeda	pp.ca.de caseína
117,0	117,0	118,2	117,1
123,0	122,6	123,4	122,3
138,0	137,0	137,2	136,7
133,5	132,5	133,1	133,4
—	129,6	130,0	129,0

—	131,5	133,7	—
131,4	132,2	131,6	130,5
124,0	122,9	—	—
122,0	121,7	—	—
118,8	119,6	—	—
127,3	128,6	—	—
120,4	121,2	—	—

Cada valor es el término medio de determinaciones duplicadas.

Tabla II. Análisis de Mg en leches
mg de Mg por 100 ml de leche

<u>Métodos por titulación</u>	<u>Método por precipitación</u>
10,2	10,9
10,7	10,5
10,5	11,2
10,9	11,4
10,7	10,1
11,6	10,3
10,7	10,7
11,0	11,0
10,9	10,1

Cada valor es el promedio de determinaciones duplicadas en soluciones de cenizas.

Bibliografía

- 1.- Bancwies, J.J., and Kenner, C.T., Anal. Che., 24,1186-7 (1952).
- 2.- Betz, J.D., and Holl, C.A., J. Am. Water Works Assoc. 42,49-56 (1953).
- 3.- Ibid., pp. 749-54.

- 4.- Biedermann, W., and Schwarzenbach, G., *Chimie Prague*, 2,56-9 (1948).
 - 5.- Bushill, J.H., Lampitt, L.H., and Filmer, D.F., *J.Soc. Chem. Ind. (London)*, 56, 411 T 413 T (1937).
 - 6.- Cheng, K.L., and Bray, R.H., *Soil Sci.*, 72,449-58 (1951).
 - 7.- Cheng, K.L., Kurts, T., and Bray, R.H., *Anal. Chem.*, 24,1640-1 (1952).
 - 8.- Connors, J.J., *J.Am. Water Works Assoc.*, 42,33-9 (1950).
 - 9.- Diehl, H., Goetz, C.A., and Hach, C.C., *Ibid.*, pp 40-8.
 - 10.- Gaster, G.F., *Proc. S.Dakota Acad. Sci.*, 28,77-81 (1949).
 - 11.- Greenblatt, I.J., and Hartman, S., *Anal. Chem.* 23,1708-9 (1951).
 - 12.- Kibrick, A.C., Ross, M., and Rogers, H.E., *Proc. Soc. Exp Biol. Med.*, 81, 353-5 (1952).
 - 13.- Morris, H.P., Nelson, J.W., and Palmer, L.S., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 3,164-7 (1931).
 - 14.- Pyne, G.T., *Analyst*, 68,330 (1943).
 - 15.- Schwarzenbach, G., Biedermann, W., and Bangerter, F., *Ibid.*, 29,811-18 (1946).
 - 17.- Schel, A.E., and Hanok, A., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 77,737-40 (1951).
 - 18.- Willson, A.E., *Anal. Chem.*, 22,1571-2 (1950).
-

Determinación de calcio en tomate

Dos técnicas para determinar calcio en tomate, por el método del versenate, se pueden aplicar; una en la que previamente se realiza una calcinación, que no es tan buena por las razones luego expuestas y otra en la que se hace una extracción ácida.

Método por extracción ácida

La muestra de tomate es licuada. Luego 100 g del tomate licuado se mezclan con 200 ml. de ácido clorhídrico (1 + 4) durante 5 minutos, después se lleva hasta 500 g con agua destilada y se filtra a través de papel de filtro Whatman N° 41H. Aproximadamente 2,5 g de carbón de leña activado grado Darco G 60⁶ (exento de calcio y fósforo) se añaden a 200 ml. del filtrado y el contenido se deja estar 30 minutos con agitación intermitente. Después se filtra a través de papel de filtro Whatman N° 4, 100 ml. de filtrado decolorizado y se lleva a 200 ml. con agua destilada. Se titulan partes alícuotas de 25 ml., en un erlenmeyer, diluidas con agua destilada a alrededor de 50 ml. y ajustadas a pH 12 con hidróxido de sodio 20% (aproximadamente 3 ml). Controlar la interferencia de iones, especialmente cobre si en la extracción ácida se usó algún aparato de cobre. Si hay cobre es necesario agregar dos gotas de cianuro de sodio o potasio 10% o dos cristales de sulfite de sodio antes de titular con versenate. Se añade indicador murexida y se hace la titulación con solución standard de versenate de sodio (1 ml. equivale a 0,4 mg de calcio). La titulación en blanco no debe exceder de 0,2 ml.

Las soluciones de tomate contienen materia colorante la cual oscurece el punto final en la titulación. Por ello fué investigado un gran número de agentes decolorizantes y procedimientos inclusive alcohol amílico, acetato de plomo neutro, crema de alúmina y varios carbones activados. De estos, solo el carbón activado Barco G 60 y crema de alúmina dan resultados exactos. Barco G 60 produce una pequeña consistencia blanca y no fué criticada en cuanto a la cantidad usada está dentro de 0,5% de la cantidad indicada para decolorizar. La crema de alúmina, preparada de una solución de alumbre y hidróxido de amonio puede ser usada como un sustituto del carbón Barco pero el más reciente fué preferido.

El procedimiento como ha sido bosquejado requiere 1,5 horas en oposición a 2-3 días necesarios para el método del permanganato.

Los resultados obtenidos en algunas de las muestras examinadas se muestran en la tabla siguiente:

método del arsenate.	método del permanganato	diferencia absoluta.	error relative
ppm	ppm		%
50	49	1	2,0
53	55	-2	-3,6
60	58	2	3,5
95	93	2	2,2
160	159	1	0,7
160	163	-3	-1,8
194	203	-11	-5,4
208	207	1	0,5
285	282	3	1,1
297	289	8	2,8

Método por calcinación

Muestras de 25 g se calcinan en una cápsula de porcelana. Las cenizas son disueltas en 50 ml. de ácido clorhídrico (1 + 4) con calentamiento en un baño maría, luego son transferidas a un erlenmeyer de 250 ml., enfriado, y neutralizado con hidróxido de sodio 40% a aproximadamente pH 7. Se añade agua destilada hasta llevar a un volúmen de 250 ml. Partes alicuotas de 50 ml. se llevan a pH 12 con hidróxido de sodio y se titulan con solución standard de versenate de sodio, usando una microbureta de 5 ml. Una titulación preliminar debe ser hecha para establecer aproximadamente el punto final. El punto final adoptado es cuando no se produce más cambio de coloración. La titulación en blanco no debe exceder de 0,1 ml.

Los valores que se obtienen por esta técnica son bajos comparándolos con el método del permanganato, como se ve en la tabla N° 2 por lo que el método por extracción ácida es mejor.

Estos resultados bajos pueden ser debidos a que en la neutralización de las soluciones de tomate se produce un regular o considerable floculado. Posiblemente el contenido fúlgoreoso causa la precipitación de algo de calcio en el pH alcalino requerido por el método del versenate. El punto final es además indefinido.

Tabla 2

**Determinación del calcio en muestras de cenizas de
tomates.-**

método del versenate	método del permanganato	diferencia absoluta	error relativo
ppm	ppm		%
31	49	-18	-36,7
41	55	-14	-25,4
158	163	- 5	- 3,1
265	289	-24	- 8,3

Interferencias en frutas y vegetales

Las soluciones consistentes de frutas y vegetales pueden contener relativamente altas concentraciones de sólidos solubles disueltos de tejidos de plantas, cloruro de sodio, sulfito, azúcares o almidón. La posible interferencia de estas sustancias en la determinación ha sido investigada. Los sólidos solubles que han filtrado, en las concentraciones que aparentemente pueden obtenerse, no afectan la exactitud del método del versenate para el calcio ni a soluciones de cloruro de sodio al 3%. El material orgánico suspendido de tejido desintegrado puede conducir a un punto final escurridizo a menos que sea removido por filtración. Al preparar productos para congelar, puede añadirse a la solución consistente de calcio, SO_2 ó metabisulfite de potasio. Concentraciones de SO_2 hasta 6000 ppm y posiblemente más altas no afectan la exactitud o precisión del método. Los azúcares en las concentraciones que pueden encontrarse en la muestra diluida que va

a ser titulada, no afectan la exactitud del método del versenate. Sin embargo, en casos extremos de altas concentraciones de azúcar, como por ejemplo con 50% de almíbar en la muestra que se está titulado, puede dar resultados para calcio mayores del valor verdadero en aproximadamente 20 ppm cuando el nivel del calcio es de alrededor de 400 ppm. Se encontró que concentraciones de ácido cítrico hasta 1% en la muestra titulada no tenían efecto en la exactitud o claridad del punto final. El almidón tampoco interfiere.

Aún cuando el cloruro de calcio es la sal más generalmente empleada en soluciones consistentes, otros compuestos de calcio que pueden emplearse como agentes que dan solidez son: sulfato de calcio, citrato de calcio, lactato de calcio, malato de calcio, gluconato de calcio, y fosfato monocalcico. Además del cloruro de calcio, han dado resultados satisfactorios con la técnica del versenate, el sulfato y citrato de calcio. El método no puede ser usado para fosfato monocalcico. Su conveniencia para las otras sales de calcio no es conocida pero desde un punto de vista químico el método debe ser satisfactorio.

Ensayos del Edta en solución patrón, usando
murexida y negro de eriochrome en la valo-
de calcio y magnesio

La aplicación del EDTA al análisis bromatológico exige como paso previo; la preparación de soluciones reactivas y accesorias y de sales de calcio y magnesio para verificar la exactitud de su valoración en soluciones libres de interferentes, antes de pasar a los productos problemas que ofrecen para cada caso particular interferencias específicas que se deberán resolver.

A

La experimentación previa consistió, en consecuencia, en la preparación de las soluciones reactivas y de sales de calcio y magnesio y en aplicar el EDTA a su valoración directa.

Reactivos:

a) Solución patrón de magnesio: 24,7093 g de sulfato de magnesio se diluyeron con agua hasta 100 ml.

b) Solución patrón de calcio: 19,7315 g de acetato de calcio, correspondientes a 5 g de ión Ca^{++} ; se disuelven con agua hasta 200 ml.

c) Solución del colorante usado en la determinación de magnesio, se preparó pesando 1 g de negro de eriochrome T, el que se disolvió con alcohol y llevo a un volumen de 250ml. con dicho disolvente.

d) Solución del colorante utilizado en la determinación del calcio: 0,200 g de murexida, se disolvieron con agua hasta 100 ml. La solución de colorantes así preparada es inestable aún por 24 horas por la oxidación del indicador, si está en contacto con sólido puede llegar a durar una semana, pero la mejor forma de prepararlo es como indica J.D.Betz and C.A.Nell que es agregando a 0,200 g de murexida 100 g de cloruro de sodio y pulverizar bien la mezcla.

e) Solución N de HONa.

f) Solución 0,1 M del complejante: a 7,3061 g de ácido etilendiamino tetraacético se añadió agua y unas gotas de rojo de metilo y después HONa N hasta que el indicador viró al amarillo para llevar al complejante a sal disódica o complejante III que es soluble, pues el complejante II o ácido etilendiamino tetraacético es poco soluble. Después se diluyó con agua y se comprobó si el pH estaba entre 6 y 7 lo que se hizo con el potenciómetro, luego de lo cual se llevó a un volumen de 250 ml. con agua.

g) Solución 0,01 M del complejante: de la solución anterior se tomaron 10 ml. los que se diluyeron a 100 ml.

h) Solución buffer: con 175 ml. de NH_4OH y 27 g de ClNH_4 añadiendo agua hasta 500 ml.

Determinación de calcio

De la solución de calcio preparada se tomaron 5 ml. y se diluyeron con agua a 250 ml., para tener una solución

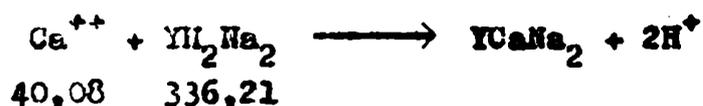
conteniendo 0,5 g de ión calcio por litro (A).

De la solución (A) se tomaron 10 ml., los que se pusieron en un erlenmeyer; se agregó 1 ml. de HONa N para llevar la solución a pH 12 (lo que se comprobó con el potenciómetro), luego de lo cual se añadieron 3 gotas del colorante (maraxida) y se tituló con complejante 0,01 N.

Los resultados obtenidos fueron:

ml. de complejante gastados	calcio hallado g/l	Ca presente g/l
11,67	0,468	0,5
11,75	0,471	0,5
11,8	0,473	0,5

El cálculo para obtener el calcio que hay en la solución es el siguiente:



en una solución 0,01 N de complejante (YH_2Na_2) hay 3,3621 g/l de complejante, luego:

1000 ml de complejante ——— 3,3621 g de complejante
ml de complejante gastados — x

si 336,21 g de complejante reaccionan con 40,08 g de Ca^{++}

x g de complejante reaccionan con z g de Ca^{++} (contenidos en la muestra ensayada).

$$\text{luego: } x \text{ g de Ca}^{++} = \frac{\text{ml de complejo gastado} \times 3,3621 \text{ g}}{\times 40,08 \text{ g}} \\ 1000 \text{ ml} \times 336,21 \text{ g}$$

$$\text{luego } x \text{ g de Ca}^{++} = \frac{\text{ml de complejo gastado} \times 40,08}{1000,000}$$

si en la muestra ensayada hay x g de Ca^{++}
en 1000 ml ----- y g/l de Ca^{++}

Determinación de magnesio

De la solución de magnesio preparada se tomaron 5 ml y diluyeron a un litro con agua destilada, con lo cual quedó una solución conteniendo 0,1217 g/l de ión Mg^{++} (B) que se calcula como sigue:

el peso molecular del $\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 246,498$; luego

$$\begin{array}{r} 246,498 \text{ g } \text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O} \text{ ----- } 24,32 \text{ g } \text{Mg}^{++} \\ 24,7093 \text{ g } \text{-----} \times ; \times = 2,4338 \text{ g } \text{Mg}^{++} \\ \text{(pesada)} \end{array}$$

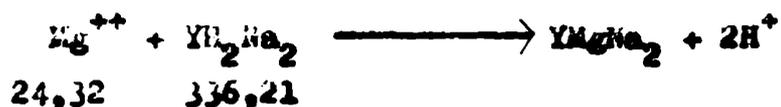
$$\begin{array}{r} 100 \text{ ml } \text{-----} 2,4338 \text{ g } \text{Mg}^{++} \\ 5 \text{ ml } \text{-----} \times ; \times = 0,1217 \text{ g } \text{Mg}^{++} \end{array}$$

De la solución (B) se tomaron partes alícuotas de 25 ml las que se pusieron en distintos erlenmeyers y a las cuales se agregó 1 ml de solución buffer para llevar la solución a un pH entre 8 y 10; luego se calentó a 40° y tituló con complejo 0,01 N.

Los resultados obtenidos fueron:

ml de complejante gastados	magnesio hallado g/l	magnesio presente g/l
13,0	0,1264	0,1217
12,9	0,1255	0,1217
13,0	0,1264	0,1217

El magnesio que hay en la solución se calcula como sigue:



en una solución 0,01 " de complejante (YH_2Na_2) hay 3,3621 g/l de complejante, luego:

1000 ml de complejante ——— 3,3621 g de complejante
ml de complejante gastados ——— x

si 336,21 g de complejante reaccionan con 24,32 g Mg^{++}
x g de complejante reaccionan con z g de Mg^{++} (con-
tenidos en la
muestra ensa-
yada).

luego: z g de Mg^{++} = $\frac{\text{ml de complejante gastados} \times 3,3621 \text{ g} \times 24,32 \text{ g}}{1000 \text{ ml} \times 336,21 \text{ g}}$

luego z g de Mg^{++} = $\frac{\text{ml de complejante gastados} \times 24,32}{100.000}$

si en la muestra ensayada hay x g de Mg^{++}
en 1000 ml ——— y g/l de Mg^{++}

Determinación de magnesio por medio de la
titulación por retorno

Se tomaron 25 ml de la solución (B) de magnesio, antes preparada, que tiene 0,1217 g/l de ión Mg^{++} , a los cuales se agregó 2 gotas de rojo de metilo y $HClNa$ 0,1 N hasta que viró el rojo de metilo a amarillo exactamente; pues si se añade $HClNa$ en exceso aunque la titulación que se realiza luego esté bien hecha, los resultados son más bajos de lo que debieran ser, pues el $HClNa$ añadido en la titulación neutraliza los iones H^+ dejados en libertad por el complejante y si en la solución ya hay $HClNa$ el titular se necesitará menos $HClNa$ del que debería usarse.

Después que el rojo de metilo viró al amarillo se agrega complejante 0,1 M en exceso y se titula con $HClNa$ 0,1 N hasta viraje del rojo de metilo a color rojo.

Los resultados obtenidos fueron:

ml de complejante 0,1 M gastados	ml de $HClNa$ 0,1 N gastados	Mg hallado g/l	Mg presente g/l
2,7	2,3	0,1119	0,1217
2,7	2,4	0,1167	0,1217
2,7	2,35	0,1143	0,1217
1,5	2,25	0,1094	0,1217
1,5	2,4	0,1167	0,1217

Estos resultados se calculan así:



los $2H^+$ se neutralizan con $2HONa$; luego 1 mol de YH_2Na_2 0,1 N corresponde a 2 moles de $HONa$ 0,1 N; por lo tanto lo ml de $HONa$ gastados = x ml de complejojante que han sido necesarios para complejear el magnesio. Después el cálculo se hace igual que en el método de determinación de magnesio por el método de titulación directa.

Determinación de Ca y Mg en soluciones que tienen distintas proporciones de aquellos.

Se determina la cantidad de calcio como se ha hecho hasta ahora y luego se determina en otra muestra juntos al calcio más magnesio, como se hace para magnesio solo.

A los ml de complejojante gastados para determinar Ca+Mg se restan los ml que se necesitaron en la titulación de calcio solo, con lo cual la cantidad de magnesio hallada depende ahora de las dos determinaciones.

Se usaron las soluciones preparadas para las determinaciones anteriores.

a) 10 ml de solución (B) de Mg más 5 ml de solución (A) de Ca

ml de complejojante gastados en la determinación de Ca + Mg	ml de complejojante gastados en la determinación de Ca
11,1	6,2
<u>11,3</u>	<u>6,22</u>
promedio: 11,2	promedio: 6,21

luego los ml de complejo gastados en la determinación de magnesio es igual a: $11,2 - 6,21 = 4,99$

Ca hallado g/l	Ca presente g/l	Mg hallado g/l	Mg presente g/l
0,497 0,4936	0,5 0,5	0,1214	0,1217

b) 5 ml de solución (B) de magnesio más 10 ml. de solución (A) de calcio.

ml de complejo gastados en la determinación de Ca + Mg	ml de complejo gastados en la determinación de Ca
14,1	11,6

luego los ml de complejo gastados en la determinación de Mg es: $14,1 - 11,6 = 2,5$

Ca hallado g/l	Ca presente g/l	Mg hallado g/l	Mg presente g/l
0,465	0,5	0,1216	0,1217

La concentración relativa de estos dos iones no tiene importancia en el ensayo.

**Determinación de calcio y magnesio en soluciones
que tienen hierro**

Se tomaron 10 ml de magnesio, más 5 ml de calcio, más 0,1 ml de Cl_3Fe 10% y se hicieron determinaciones como en las soluciones de calcio más magnesio.

ml de complejo gastados en la determinación de Ca + Mg		ml de complejo gastados en la determinación de Ca	
	11,1		6,2
	<u>11,3</u>		<u>6,2</u>
promedio:	11,2	promedio:	6,2

Luego los ml de complejo gastados en la determinación de Mg es = $11,2 - 6,2 = 5,0$

Ca hallado g/l	Ca presente g/l	Mg hallado g/l	Mg presente g/l
0,497	0,5	0,1216	0,1217
0,4986	0,5		

con lo cual se ve que el hierro en la concentración usada no interfiere.

Determinación de calcio y magnesio en soluciones
que tienen zinc

Se colocaron en un erlenmeyer 10 ml de solución de magnesio, más 5 ml de solución de calcio y 1 ml de Cl_2Zn al 60% y al agregar el buffer precipitó el Zn así que ya se vio que no interfería.

B.- Aplicaciones

Las aplicaciones programadas en este trabajo han seguido el orden de menor a mayor dificultad de acuerdo tanto al contenido de sustancias interferentes, como a la bibliografía que considera cada caso.

Es así, que se comienza con la determinación de la dureza en aguas, tema sobre el cual existe bastante bibliografía (véase la la. sección sobre antecedentes) y se limitaría a una aplicación de técnicas preestablecidas.

Para los casos siguientes: leche, jugo de uvas, jugo y pasta de tomate y harinas de cereales, ya hay déficit bibliográfico y dificultades a salvar en la propia experimentación según se podrá apreciar específicamente.

Determinación de la dureza del agua

En una muestra de agua se determina la cantidad de calcio presente y en otra muestra de agua la cantidad de calcio más magnesio lo que da la dureza total y si a ésta le restamos la dureza debida al calcio tenemos la dureza que se debe al magnesio.

La cantidad de calcio presente en la muestra de agua, además de determinarla por el método de titulación con versenate, se determinó por el método del oxalato-permanganato habiendo antes eliminado la sílice y los compuestos precipitables por amoníaco.

a) en agua de la ciudad de Buenos Aires

Determinación de calcio

las determinaciones se hicieron en muestras de 20 ml.

ml de complejo gastados en la determinación de Ca	Calcio hallado	
	por titulación	con MnO_4K
	ppm como CO_3Ca	
0,9	45,1	47
0,9	45,1	
<u>0,9</u>	<u>45,1</u>	
promedio: 0,9	promedio: 45,1	

Errores	
relativo	Respecto método MnO_4K
0	- 1,9
0	- 1,9
0	- 1,9

Determinación de magnesio y dureza total

las determinaciones se hicieron en muestras de 20 ml.

Los ml de complejo gastados en la determinación de Ca + Mg fueron:

a) 1,14
b) 1,16
c) 1,17
d) 1,14

Dureza total hallada	Error relativo	Magnesio hallado	Error relativo
ppm como CO_3Ca		ppm como CO_3Ca	
57,11	-0,63	12,01	- 0,63
58,12	+0,38	13,02	+ 0,38
58,62	+0,88	13,52	+ 0,88
57,11	-0,63	12,01	- 0,63
<u>57,11</u>		<u>12,01</u>	
promedio: 57,74		promedio: 12,64	

b) en agua de pozo de Morón

Determinación de calcio

Las determinaciones se hicieron en muestras de 10 ml.

ml de complejo gastados en la determinación de Ca	Calcio hallado	
	por titulación	con MnO_4K
	ppm como CO_3Ca	
2,55	255,51	259
2,55	255,51	
<u>2,54</u>	<u>254,51</u>	
promedio: 2,547	prom.: 255,18	

Errores	
relativo	Respecto método MnO_4K
+ 0,33	- 3,49
+ 0,33	- 3,49
- 0,67	- 4,49

Determinación de magnesio y dureza total

las determinaciones se hicieron en muestras de 10 ml.

Los ml de complejo gastados en la determinación

de Ca + Mg fueron: a) 3,35

b) 3,45

c) 3,35

Dureza total hallada	Error relativo	Magnesio hallado	Error relativo
ppm como CO_3Ca		ppm como CO_3Ca	
335,67	- 3,34	80,49	- 3,34
345,69	+ 6,68	90,51	+ 6,68
<u>335,67</u>	- 3,34	<u>80,49</u>	- 3,34
promed: 339,01		promedio: 83,83	

Determinación de calcio en leche

La determinación de calcio en leche se hizo por el método de precipitación ácida de la caseína para solubilizar todo el ión calcio. El líquido obtenido por filtración fue luego tratado mediante resina intercambiadora de aniones: De -Acidite FF que es una resina altamente básica, de excepcional estabilidad. Esta resina es monofuncional y su capacidad total de 2 m. equivs. por gramo seco es independiente del pH. Como esta resina se suministra en forma totalmente agotada hubo que regenerarla efectuándose ésta con dos veces el volumen del lecho de solución de hidróxido de sodio al 3%, lavándose el excedente de álcali con agua destilada; se requieren unos seis volúmenes del lecho.

El tratamiento con resina intercambiadora de aniones se hace para eliminar el ión fosfato que interferiría en la determinación de calcio, de acuerdo a lo recomendado por George Christianson, Robert Sennes, and S.T.Coulter. En el líquido obtenido se ensayó en cada caso la presencia de fosfato mediante la reacción con molibdato de amonio en medio nítrico.

Procedimiento usado: 25 ml de leche fueron colocados en un erlenmeyer de 250 ml y diluidos con 50 ml de agua destilada; luego se agregó 5 ml de HCl N y se dejó estar diez minutos, después de lo cual se añadió 6,25 ml de HONa 0,5 N ya que el ácido disuelve las sales de calcio coloidal y dispersa la caseína en el lado ácido de su punto isoelectrico y la adición de álcali lleva el pH a 4 - 4,1 y entonces precipita la caseína y el calcio queda en solución.

Después se lleva el contenido del erlenmeyer a volumen e sea a 250 ml y el total se filtra. El filtrado debe ser claro.

Del líquido filtrado se tomaron partes alícuotas de 20 ml las que se hicieron pasar por separado por una columna con resina intercambiadora de aniones. Cada parte alícuota que pasó por la columna se lavó con 40 ml de agua destilada y del total o sea de la parte alícuota de 20 ml más los 40 ml del agua de lavado se tomaron porciones de 20 ml las que fueron tituladas determinándose en ellas el calcio, como se hizo para la solución patrón de calcio.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

ml de complejo gastados en la determinación de Ca	Ca hallado mg/100 g	Error relativo
2,0	116,67	- 1,36
2,02	117,83	- 0,20
2,1	122,50	+ 4,47
1,95	113,75	- 4,28
2,05	119,59	+ 1,56
2,02	117,83	- 0,20
	<u> </u>	
	promedio 118,0,	

El calcio que hay en la solución se calcula así:

250 ml ————— 25 ml de leche
 20 ml que tomo ——— x ; x = 2 ml de leche
 60 ml ————— 2 ml de leche
 20 ml que titule ——— x ; x = 0,667 ml de leche

como sabemos por la fórmula hallada en el capítulo de valora-

ción de calcio y magnesio en soluciones patrones, la cantidad de calcio que hay en la muestra es igual a:

$$x \text{ g Ca} = \frac{\text{ml de equivalente gastados} \times 40,08}{100,000}$$

$$0,667 \text{ ml de leche} \text{ ----- } x \text{ g Ca}$$

$$100 \text{ g de leche} = 97,08 \text{ ml de leche} \text{ ----- } y$$

$$y = \frac{x \cdot 97,08}{0,667} = \text{g de Ca/100 g de leche}$$

Determinación de calcio y magnesio en jugos de frutas

a) Jugo de uva

1°) Determinación de calcio

Para determinar el ión calcio en jugo de uva se aplicó una técnica similar a la seguida con la leche libre de caseína; es decir el empleo de una resina intercambiadora de aniones para eliminar los fosfatos; pero en este caso, usando directamente el producto diluido convenientemente con agua destilada.

Realizados algunos ensayos preliminares se usó el procedimiento que se describe a continuación:

Procedimiento usado: 10 ml del jugo se mezclaron con 20 ml de agua destilada; el todo se pasó por una columna conteniendo resina intercambiadora (De Acidite FF que es un intercambiador aniónico monofuncional fuertemente básico) para retener los iones fosfatos y se lavó con 5 ml de agua destilada.

Este líquido fué titulado agregando HONa N hasta que por reacciones al toque con timolftaleína al 1% da color azul (para llevar el pH a 10-12). Luego se agregó unas gotas de indicador, murexida, y se tituló con complejante 0,01 M.

Como método comparativo de esta titulación se determinó el calcio por el método del oxalato-permanganato.

ml de complejante gastados en la determinación de Ca	Calcio hallado mg/100 ml	
	per titulación	con MnO_4K
5,5	22,044	22,044
5,5	22,044	
5,3	21,242	
5,4	21,643	
<u>5,55</u>	<u>22,244</u>	
promedio: 5,45	promedio: 21,843	

Errores	
relativo	Respecto método MnO_4K
+ 0,201	0
+ 0,201	0
- 0,601	- 0,802
- 0,200	- 0,401
+ 0,401	+ 0,200

2°) Determinación de magnesio

Para las determinaciones de magnesio se hace una titulación en la que se halla la cantidad de calcio más magnesio y de ésta hay que restar la cantidad de calcio hallada anteriormente.

La determinación conjunta de calcio y magnesio se hizo tomando 10 ml de jugo de uva los que se resolieron con 20 ml. de agua destilada y se hicieron pasar por una columna inter-

cambiadora de aniones, la que se lavó con 5 ml de agua destilada. Al líquido obtenido se le añadió solución buffer para obtener un pH 10 lo que se comprobó con papel indicador Universal. A este líquido así preparado se le añadieron unas gotas de colorante, negro de eriochrome T, y se tituló con complejojante 0,01 M.

ml de complejojante gastados en la determinación de		Mg hallado mg/100 ml.	Error relativo
Ca + Mg	Ca		
8,17		6,62	- 0,01
8,2		6,69	+ 0,06
8,15		6,57	- 0,06
<u>8,18</u>	<u> </u>	<u>6,64</u>	+ 0,01
promedio: 8,175	5,45	6,63	

b) Tomate natural

Determinación de calcio

No aplicamos el método indicado en la bibliografía por carecer del carbón activado Darco G que indica C.C. Srtachan and A.W. Moyle sino que se ajustó una técnica distinta, con aplicación de resina intercambiadora aniónica, previo algunos ensayos exploratorios.

Se licuó tomate natural en licuadora y de éste se pesó 50,272 g a los que se agregaron 20 ml de HCl 0,5 N. Se calentó con agitación hasta coagular, después de lo cual se filtró. Luego se lavó a neutralidad con HONa N, utilizando papel tor-

nasol como indicador. Este líquido así preparado se pasó por una columna conteniendo resina intercambiadora de aniones (De-Acidite FF, que es un intercambiador aniónico monofuncional fuertemente básico) para eliminar el ión fosfato que pudiera contener el tomate y que podría interferir; luego se lavó la columna y se llevó a un volumen de 100 ml el líquido filtrado. Se tomaron partes alícuotas de 50 ml las que se titularon con complejante 0,01 M usando murexida como indicador y habiendo llevado a pH 12 con HONa M antes de agregar la murexida como se ha hecho en todos los ensayos precedentes.

Para comparación se determinó el calcio por el método del oxalato-permanganato.

ml de complejante gastados en la determinación de Ca	Calcio hallado mg/100 g	
	per titulación	con MnO_4K
8,72	13,90	13,50
8,5	13,55	
8,7	13,87	
8,4	13,39	
<u>8,5</u>	<u>13,55</u>	
promedio: 8,56	promedio: 13,65	

relativo	Errores	
	respecto método MnO_4K	
+ 0,25	+ 0,40	
- 0,10	+ 0,05	
+ 0,22	+ 0,37	
- 0,26	- 0,11	
- 0,10	+ 0,05	

Determinación de magnesio

Se prepara la solución de tomate igual que se hizo para la determinación de calcio, pesando en este caso 49,430 g de tomate licuado. De la solución preparada se tomaron partes alícuotas de 50 ml en las que se determinó la suma de calcio y magnesio como se ha hecho hasta ahora en esta clase de determinaciones.

ml de complejante gastados en la determinación de Ca+Mg :

- = a) 9,3
- b) 9,25
- c) 9,3

ml de complejante gastados en la determinación de Ca:

si para 50,272/2 g de tomate se necesitaron 8,56 ml.
de complejante,

para 49,430/2 de tomate se necesitarán x

$$x = 8,41 \text{ ml de complejante.}$$

Mg hallado mg/100 g.	Error relativo
a) 8,76	+ 0,16
b) 8,27	- 0,33
c) <u>8,76</u>	+ 0,16
promedio: 8,60	

c) Jugo de tomate envasado

Las determinaciones se hicieron igual que para el tomate natural. La cantidad que se pesó del jugo de tomate envasado fué de 54,570 g.

ml de complejo gastados en la determinación de Ca	Calcio hallado por titulación mg/100 g.	Error relativo
3,92	5,75	- 0,025
3,95	5,80	+ 0,025
3,92	5,75	- 0,025
<u>3,95</u>	<u>5,80</u>	+ 0,025
promedio: 3,935	promedio: 5,775	

d) Extracto de tomate envasado

Las determinaciones se hacen igual que para el tomate natural. La cantidad pesada de extracto natural fué de 43,838 g. En este caso en vez de llevar a 100 ml la solución ya preparada se llevó a 200 ml y se tomaron partes alícuotas de 50 ml. para la titulación.

ml de complejo gastados en la determinación de Ca	Calcio hallado por titulación mg/100 g	Error relativo
2,67	9,77	+ 0,51
2,5	9,15	- 0,11
2,5	9,15	- 0,11
2,45	<u>8,96</u>	- 0,30
	promedio: 9,26	

Determinación de Ca y Mg en harina de trigo

En estas determinaciones en harina de trigo nos encontramos con la dificultad más difícil de salvar, podríamos decir, que es la presencia de mucho fosfato, ya que si el inconveniente fuera debido a los iones metálicos que interfieren en la titulación del versenato estos podrían eliminarse complejándolos con una u otra sustancia. Por otra parte no se encontró bibliografía especial al respecto.

El ión fosfato se trató de eliminar de varias maneras, sin resultado positivo pues o se introducía otra interferencia o se daba un color tal a la solución que luego no permitía ver el viraje en la titulación. La única forma que dió un resultado bastante bueno en la eliminación del ión fosfato ya que eliminó bastante fosfato lo que permitió hacer la determinación de calcio y magnesio con exactitud fué pasar la solución ya preparada, como luego se describe, por una columna conteniendo resina intercambiadora de aniónes, efectiva para los iones fosfato.

La resina intercambiadora usada fué la De Acidite E, ya que después de algunos ensayos se vió que daba mejor resultado que la De Acidite FF. La resina De Acidite E es un intercambiador aniónico de basicidad media y tiene una alta capacidad tanto para absorber ácidos como para intercambiar aniones. Su capacidad para absorber ácidos depende en cierto grado de la concentración y fuerza del ácido, siendo mayor cuanto más alta es la concentración y mayor la fuerza del ácido. Como esta resina se suministra en forma totalmente agotada hubo que regenerarla efectuándose ésta haciendo pasar por el material

dos veces su volumen de solución al 2% de hidróxido de sodio aunque también se puede hacer con carbonato de sodio al 5% o hidróxido de amonio al 3%. El excedente de álcali se lava con agua destilada, necesitándose veinte volúmenes de leche habiendo hecho la regeneración con hidróxido de sodio pero sólo tres o cuatro cuando se emplea carbonato de sodio.

Algunas de las otras formas en que se trató de eliminar el ión fosfato fueron las siguientes: hidrolizando la harina con HCl y después de filtrar eliminando el ión fosfato con molibdato de amonio en medio nítrico, pero aunque así se eliminaba bien el ión fosfato se la daba a la solución un color verde tan intenso que el viraje en la titulación fué imposible de ver; otra forma fué oxidando con brome después del tratamiento anterior para ver si se eliminaba el color pero tampoco dió resultado. Otra forma en que se trató de eliminar el ión fosfato fué hidrolizando la harina con NO_3H y después de filtrar tratar con estaño metálico en medio nítrico pero también quedaba la solución coloreada, entonces se trató de eliminar este inconveniente tratando con carbón activado, sirviendo únicamente para este propósito el carbón activado Darco G ya que los otros tenían ellos mismos fosfato lo que se comprobó con molibdato de amonio en medio nítrico; a pesar de tener ahora ya eliminado el ión fosfato y de tener la solución sin coloraciones molestas, al titular se vió que interfería el ión nitrato que habíamos introducido en la solución.

Determinación de calcio

Se pesaron 15 g de harina de trigo en ensayo a los

que se agregó 60-70 ml. de una solución formada por 10 ml de HCl de densidad igual a 1,125 y 100 ml de agua destilada; se calentó con agitación hasta que la harina se hidrolizó bien, pues sino tarda mucho en filtrar pues se forma un gel, notándose el momento en que se hidrolizó bien pues la solución de harina se pone bien líquida. Al calentar para hidrolizar la harina hay que tener cuidado de no calentar demasiado fuerte al principio pues sino la solución toma un color más oscuro que luego al titular dificulta ver el viraje.

Después de hidrolizar la harina, se filtra y lava el precipitado que hay en el embudo con la solución clorhídrica antes preparada. Luego de filtrar se pasa la solución por una columna conteniendo intercambiador de anión (De Acidite E) para eliminar de esta forma la mayor cantidad posible de ión fosfato. Después de pasar toda la solución por la columna se lavó esta con agua destilada y el filtrado se llevo a un volumen de 200 ml. tomando partes alícuotas de 50 ml para realizar la titulación, la que se hace como ya se ha explicado en otros capítulos.

Como método comparativo de esta titulación se determinó el calcio por el método del oxalato-permanganato.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

.....//

ml de complejo gastados en la determinación de Ca	Calcio hallado mg/100 g	
	per titulación	con MnO_4^-
2,25	24,05	24,69
2,35	25,10	
2,30	24,58	
2,25	24,05	
<u>2,35</u>	<u>25,10</u>	
promedio: 2,30	promedio: 24,58	

Errores	
relativo	Respecto método MnO_4^-
- 0,53	- 0,64
+ 0,52	+ 0,41
0	- 0,11
- 0,53	- 0,64
+ 0,52	+ 0,41

Determinación de magnesio

Se prepara la solución que se va a titular igual que se hizo para la determinación de calcio y luego la titulación se hace como se ha explicado anteriormente, tomando en este caso partes alícuotas de 10 ml.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

ml de complejo gastados en la determinación de		Mg hallado mg/100 g	Error relativo
Ca + Mg	Ca		
2,25		58,04	+ 2,92
2,1		53,18	- 1,94
2,2		56,42	+ 1,30
2,1		53,18	- 1,94
<u>2,15</u>	<u> </u>	<u>54,80</u>	- 0,32
promedios: 2,16	2,30	55,12	

O b s e r v a c i o n e s: Los virajes de las titulaciones con complejantes se ven difícilmente con luz artificial, pero son bastante claros con luz natural. Hay que evitar que las soluciones a titular sean muy coloreadas para que los virajes sean claros.

El colorante añadido en las determinaciones tiene que estar en una cantidad adecuada para que el viraje sea neto y si se quiere comparar el color de dos titulaciones el colorante tiene que estar en igual cantidad en ambas pues sino es imposible compararlas.

Resumen

A.- Control de la valoración de Ca^{++} y Mg^{++} en soluciones libres de interferentes.

B.- Aplicaciones

1°.- Determinación de durezas de aguas

a) agua de la ciudad de Buenos Aires.

Calcio hallado		Errores	
por titulación	con MnO_4K	relativo	respecto método MnO_4K .
ppm como CO_3Ca			
45,1	47	0	- 1,9
45,1		0	- 1,9
<u>45,1</u>		0	- 1,9
promedio: 45,1			

Dureza total hallada ppm como CO_3Ca	Error relativo	Magnesio hallado ppm como CO_3Ca	Error relativo
57,11	-0,63	12,01	- 0,63
58,12	0,38	13,02	+ 0,38
58,62	0,88	13,52	+ 0,88
<u>57,11</u>	-0,63	<u>12,01</u>	- 0,63
promedio: 57,74		pr. 12,64	

Observación: El dato de O.S.N. de dureza total de agua es de 40-60 ppm como CO_3Ca .

b) agua de pozo de Morón

Calcio hallado		relativo	Respecto método MnO_4K .
por titulación	con MnO_4K		
ppm como CO_3Ca			
255,51	259	0,33	- 3,49
255,51		0,33	- 3,49
<u>254,51</u>		-0,67	- 4,49
promedio: 255,18			

Dureza total hallada	Error relativo	Magnesio hallado	Error relativo
ppm como CO_3Ca		ppm como CO_3Ca	
335,67	-3,34	80,49	-3,34
345,69	+6,68	90,51	+6,68
<u>335,67</u>	-3,34	<u>80,49</u>	-3,34
promedio: 339,01		promed. 83,83	

2°.- Determinación de calcio en leche

Ca hallado - mg/100 g	Error relativo
116,67	- 1,36
117,83	- 0,20
122,50	+ 4,49
113,75	- 4,28
119,59	+ 1,56
<u>117,83</u>	- 0,20
promedio: 118,03	

O b s e r v a c i ó n : En el libro Chemical composition of Foods de Mc Cance & Widdowson da un valor de calcio en leche igual a 120 mg/100 g y en el libro de Química Biológica de V. Deulofeu y A. D. Marchesi el dato que figura en la página 719, relativo al calcio contenido en la leche es de 118 mg/100 g.

3°.- Determinación de calcio y magnesio en jugos de frutas.

a) jugo de uva.

Calcio hallado mg/100 ml.		Errores	
per titulación	Con MnO_4K	Relative	Respecto método MnO_4K
22,044	22,044	+ 0,201	0
22,044		+ 0,201	0
21,242		- 0,601	-0,802
21,643		- 0,200	-0,401
<u>22,244</u>		+ 0,401	+0,200
promedio: 21,843			

Mg hallado - mg/100 ml		Error relativo
	6,62	- 0,01
	6,69	+ 0,06
	6,57	- 0,06
	<u>6,64</u>	+ 0,01
promedio:	6,63	

O b s e r v a c i ó n : En la Enciclopedia de Química Industrial de Ullmann da los siguientes datos: el extracto de mosto tiene 3 - 4 g/l de cenizas y éstas contienen 3-3% de Ca y 3-8% de Mg que haciendo cálculos se obtiene que el contenido de calcio y magnesio puede variar entre los siguientes valores extremos: calcio entre 22,0 y 6,4 mg/100 ml. - magnesio entre 19 y 5,1 mg/100 ml.-

b) Tomate natural

Calcio hallado-mg/100 g.		Errores	
por titulación	con MnO_4K	Relativo	Respecto método MnO_4K
13,90	13,50	+ 0,25	+ 0,40
13,55		- 0,10	+ 0,05
13,87		+ 0,22	+ 0,37
13,39		- 0,26	- 0,11
<u>13,55</u>		- 0,10	+ 0,05
promedio: 13,65			

Mg hallado - mg/100 g	Error relativo
8,76	+ 0,16
8,27	- 0,33
<u>8,76</u>	+ 0,16
promedio: 8,60	

O b s e r v a c i ó n : En el libro Chemical composition of Foods de Mc Gance & Widdowson figuran los siguientes valores para calcio y magnesio en tomate crudos: 13,40 miligramo/100 g para calcio y 10,93 mg/100 g.

e) Jugo de tomate envasado

Calcio hallado-mg/100 g	Error relativo
5,75	- 0,025
5,80	+ 0,025
5,75	- 0,025
<u>5,80</u>	+ 0,025
promedio: 5,775	

d) Extracto de tomate envasado

Calcio hallado mg/100 g		Error relativo
	9,79	+ 0,51
	9,15	- 0,11
	9,15	- 0,11
	<u>8,96</u>	- 0,30
promedio:	9,26	

4º.- Determinación de calcio y magnesio en harina de trigo.

Calcio hallado mg/100 g		Errores	
por titulación	con MnO_4K	relativo	Respecto MnO_4K
24,05	24,59	- 0,53	- 0,54
25,10		+ 0,52	+ 0,41
24,58		+ 0,00	- 0,11
24,05		- 0,53	- 0,64
<u>25,10</u>		+ 0,52	+ 0,41
promedio:	24,58		

mg hallado mg/100 g.	Error relativo
58,04	+ 2,92
53,18	- 1,94
56,42	+ 1,30
53,13	- 1,94
<u>54,80</u>	- 0,32
Promedio: 55,12	

O b s e r v a c i ó n : En el libro Chemical composition of cereals de McCance & Widdowson figuran los siguientes valores para calcio y magnesio en mg/100g.

	<u>Calcio</u>	<u>Magnesio</u>
Trigo inglés (100%)	35,62	106,17
(85%)	24,69	35,27
(80%)	21,51	23,83
(75%)	19,40	16,93
(70%)	19,04	13,40
(sin germen)	15,10	8,82
Trigo de Manitoba (Canadá) (100%)	27,51	141,09
(85%)	18,69	61,73
(80%)	15,52	44,79
(75%)	13,05	30,33
(70%)	12,69	26,30
(sin germen)	11,28	21,52

si el terreno está abonado con CO_2Ca a los valores de Calcio hay que añadirles algo.

De las tablas anteriores deducimos que la cantidad de calcio y magnesio en harina depende de varios factores entre ellos el grado de extracción del grano, la clase de trigo y el abono del terreno.-

CONCLUSIONES

Como hemos podido observar a través de todo lo que precede, la determinación de calcio y magnesio con la sal disódica del ácido etilen-diamino-tetracético o versenate o complejante III se basa simplemente en llevar la solución de la sustancia problema libre de interferentes al pH necesario para cada una de las determinaciones, siendo 12 para el caso de la determinación del calcio y 10 para el caso de la determinación del magnesio, utilizándose para tal fin OHNa en el primer caso y una solución buffer formada por $\text{ClNH}_4/\text{NH}_4\text{OH}$ en el segundo.

En la determinación del calcio, titulando con versenate, se usa como indicador auraxida o purpurato de amonio, el que vira de rosa salmón a violado púrpura, aunque a veces no sean exactamente estos colores (por el color que tiene la solución antes de agregar el colorante), por lo cual hay que tomar como punto final de la titulación aquel en el que el agregado de más complejante no produzca más cambio de coloración. Es recomendable una valoración preliminar de orientación.

En la determinación de magnesio, titulando con versenate, se usa como indicador negro de eriochrome T o F 241, que es la sal sódica de un colorante dihidroxiaséico sulfonado nitrado, el que es de color rojo-vino en presencia de iones magnesio y vira al azul en el punto de equivalencia o sea en el momento en que todos los iones magnesio unidos al colorante se unen al complejante ocurriendo esto porque el

complejo magnesio-complejante es más estable que el complejo magnesio-colorante. El punto final en algunas ocasiones puede no ser azul, debiéndose esto a que la solución ya sea coloreada de por sí (Un ejemplo lo tenemos en una solución que tenga cromato, al que le imparte un color amarillento a la solución y al titular el punto final en vez de ser azul es verde), por lo cual hay que tomar como punto final aquel en que ya no hay cambio en el tinte de la solución.

En la determinación de magnesio se trabaja en medio amoniacal de pH 10 pues para valores más elevados puede precipitar hidróxido de magnesio y además el colorante es más alcalino dando color anaranjado por lo que el punto final azul no es obtenido. Si se trabaja a pH menores el metal está ligado menos intensamente a la materia colorante.

Si en la solución a titular están presentes el ión calcio y el ión magnesio se determina la suma de los dos como se hace para magnesio solo y se hace luego, en otra parte alícuota de la solución problema, una determinación de calcio solo, por lo que tendremos la cantidad de magnesio presente en la solución restando de la primera determinación la cantidad de calcio hallado en la segunda determinación la cantidad de calcio hallado en la segunda determinación, por lo cual la cantidad de magnesio hallado depende de las dos determinaciones por lo que los errores se suman.

Si en una solución hay presentes iones calcio pero

de iones magnesio, los iones calcio además de determinarlos usando murexida como ya hemos dicho los podemos determinar agregando a la solución una cantidad conocida de ión magnesio y determinar entonces la cantidad de calcio problema más el magnesio agregado, y si a esto le restamos el magnesio agregado tenemos la cantidad de calcio presente en la solución. Los iones calcio no los podemos determinar directamente con negro eriochrome T, si en la solución no hay algo de magnesio pues la constante de formación del complejo calcio colorante es demasiado débil para determinar un cambio de coloración apreciable. En cambio al agregar el magnesio se puede determinar el calcio pues el complejante III o versenato tiene una afinidad mayor para el calcio que para el magnesio por lo cual se combinará primero al calcio y después a los iones magnesio libres y por último a los iones magnesio combinados al negro eriochrome T.

Si cuando se quiere dosar el magnesio están presentes en la solución otros iones que pudieran interferir se podrá usar las sustancias necesarias para evitarlo como por ejemplo el sulfuro de sodio para impedir la interferencia de los metales pesados, el ioduro de potasio para evitar el mercurio, el tartrato de amonio para evitar la interferencia del aluminio y para eliminar la interferencia del Zn, Cd, Cu, Hg el cianuro de sodio.

En la determinación de calcio se cuenta con la ventaja de que muchos de los iones interferentes son precipita-

des antes de la titulación como hidróxidos por el pH a que se trabaja, pero tenemos otra desventaja y es que casi siempre en la solución en que se va a determinar calcio hay presentes iones fosfato en una cantidad tal que interfiere con la titulación lo que hay que evitar, pues sino al pH de la reacción precipita fosfato cálcico y los resultados obtenidos en la titulación son erróneos por defecto.

En cuanto a las aplicaciones bromatológicas realizadas, los resultados obtenidos permiten concluir que:

a) Para aguas resulta más ventajoso que el método permanganométrico y el titrimétrico mediante solución jabonosa, tanto por la sencillez de manualidad como por la exactitud del dato hallado.

b) Para leches es aconsejable el método propuesto por Robert Jarnes partiendo de la coagulación de la caseína con ácido mineral seguida de eliminación de fosfatos mediante una resina intercambiadora de aniones.

c) Para el jugo de uvas es también aconsejable la aplicación de la resina intercambiadora de aniones previa dilución al tercio con agua destilada.

d) En el caso de pastas y jugo de tomates también de buen resultado la eliminación de fosfatos mediante resina intercambiadora de aniones previo tratamiento con ácido clorhídrico diluido (0,5-1,0N) y filtración que permite obtener una solución clara y ligeramente amarillenta.

e) La harina de orcaal es el único caso de los estudios que no ha dado resultados netamente satisfactorios, debido al alto contenido en fosfatos y la dificultad en eliminarlos, aunque en las condiciones descritas se lograron datos próximos a los obtenibles para permanganometría.

En base a la experimentación realizada, más lo expuesto en la bibliografía especial sobre el tema, puede recomendarse el uso del EDTA o versenato en análisis bromatológicos, teniendo en cuenta las sustancias interferentes y la posibilidad de eliminarlas en cada caso particular. Su aplicación simplificaría los métodos de valoración de calcio y magnesio en muchos productos.

Rodolfo Fuentes

Alicia E. Fernandez

B I B L I O G R A F I A

- 1.- J.A.Cautier - Ira. serie- Mises au Point de Chimie Analytique pure et appliquée et D'Analyse bromatologique.
- 2.- Harvey Diehl, Charles A.Goetz and Clifford C.Hach, J. Am.Water Works Assoc., 42,1950,40.
- 3.- J.D.Betz and C.A.Nell, J.Am.Water Works Assoc., 42,1950,41
- 4.- J.J.Connors, J.Am.Water Works Assoc., 42,1950,33.
- 5.- Robert Jenness (Dept.Ag.Biochem.,Univ.of Minnesota, St Paul, Minn). J.Anal.Chem. 25,Nº 6, 956-8 (1953).
- 6.- George Christianson,Robert Jenness, and S.T.Coulter (Univ. of Minnesota, St. Paul). Anal.Chem. 26.1923-7 (1954).
- 7.- Rapid Versenate Methods for Determining Calcium in Solutions and Fruit and Vegetable Tissue for Quality Control. G.C.Strachan and A.W.Moyle (Dominion Exptl.Sta.,Summerland, B.C.,Can) Food Technol. 6,336-6 (1952).
- 8.- W.A.Foster (Long Ashton Research Sta, Bristol Engl). Analyst 78,179-80. (1953).
- 9.- A.Pribil, Collection Czechelov. Chem. Commun, 14,320-334 (1949).
- 10.- Héctor R.Hernández, Ursula Biermancker, and Albert M. Mattocks (Am.Pharm.Assoc.Lab., Washington,D.C.) Bull. Natl. Formulary Comm. 18, 145-52 (1950).
- 11.- O.Kngel (Inst. Gerberchem., Darmstadt, Ger) Das Leder 2,241-2 (1951);cf. Spiers,G.A.44,10363 f.

- 12.- H.Flaschka (A.Zankl Söhne, Graz-Göteborg, Austria). Mikrochemie ver. Mikrochim Acta 39,38-50 (1952).
- 13.- G.C.Krijn (Univ. Amsterdam). Che.Weekblad 48,165-70 (1952).
- 14.- Eric. W.Debney (Edinburgh and East of Scot Coll. of Agr., Edinburgh) Nature 169,1104-5 (1952).
- 15.- F.L.Hahn (Nisa 64, Májico G.D.F.) Anal.Chim.Acta 7, 68-9 (1952).
- 16.- Rudolf Fribil and Ladislav Fiala. Ibid 331-7.
- 17.- H.W.Zusman. (Alrose Chem Co., Providence. R.I.) Soap Sanit, Chemicals 28,79,81,82,139 (1952).
- 18.- Frits Neumann (Zellstoffabrik Waldhof, Mannheim, Ger) Das Papier 6-519-22 (1952).
- 19.- Albert Farbey (Alrose Chem. Co., Providence, R.I.) Soap Sanit Chemicals 28,80, 82,83,85,87,153 (1953).
- 20.- S.Saunier and A.Lemaître. Suer. franc 92,231-3 (1951).
- 21.- G.Brunisholz, M.Genton, and E.Platter (Univ.Lausanne, Switz). Chim. Acta 36,782-7 (1953).
- 22.- Marcel D.E.Jonckers (Marchienne-au-Pont, Belg). Chim. Anal. 35,101-8 (1953)
- 23.- Anders Rigboe and Per-Erik Sandaa. Finska Kemists-Amfudets Medd 62,13-24 (1953).
- 24.- Arthur de Sousa (Inst. supér. tech.,Lisbon, Portugal) Anal.Chim. Acta 9,305-8 (1953).

- 25.- R.E. Collier (Ministry Agr. and Fisheries, Starcross, Devon, Engl) *Chemist Analyst* 43, 41-2 (1954).
- 26.- Stuart Dunn and Suzanne S. Roberts (New Hampshire Agr. Expt. Sta, Durham Plant Physiol 29, 337-42 (1954).
- 27.- Charles W. Gehrke Harold E. Affsprung, and Yung C. Lee (Dept. of Agr. Chem., Columbia, Mo) *Anal. Chem.* 26, 1944-8 (1954).
- 28.- R.D. Bond and B.M. Tucker (C.S.I.R.O. Div. of Soils, Adelaide, Australia) *Chemistry & Industry* 1954, 1236-7.
- 29.- R.E. Collier (Ministry Agr. Fisheries Starcross, Exeter Engl) *Chemistry & Industry* 1955, 587-8 of C.A. 48, 9269 1
- 30.- F.N. Dobronravov and A.M. Korovinova *Sakhar'naya Prod.* 29 No 2, 25-1 (1955).
- 31.- J.E.K. Cassar (Dept. Agr. Georgetown, Brit. Guiana) *Analyst* 80, 482-4 (1955).
- 32.- F. Bermejo Martínez and A. Prieto Bernal. *Inform. quim. anal.* (Madrid) 9, 86-94 (1955), of C.A. 49.- 9.429 f.
-