

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"DETERMINACION DEL COLORANTE
ROJO No. 2 EN GELATINAS".

MA. DEL CARMEN SANSON ORTEGA

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1979



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LAB. TESIS 1979
NO. M.T. ~~52~~ 325
FECHA _____
PROC. _____
S. _____



Jurado asignado:

PRESIDENTE : DRA. MA. ANTONIA DOSAL GOMEZ
VOCAL : Q.F.B, MA. ISABEL CARRILLO BLANDO
SECRETARIO : DRA. LILIANA SALDIVAR OSORIO
1er. Suplente : I.Q. REBECA SANDOVAL MARQUEZ
2do. Suplente : M, en C. JOSEFINA DE GYVES MARCINIAK

El tema se desarrolló en el Departamento
de Química Analítica.D,E,S, Facultad de
Química de la U.N.A.M.

Sustentante : MA. DEL CARMEN SANSON ORTEGA
Asesora : DRA. MA. ANTONIA DOSAL GOMEZ

INDICE

Págs.

1.-	INTRODUCCION.	1
2.-	PARTE EXPERIMENTAL.	5
2,1	Medios experimentales utilizados.	5
2,1,1	Equipo.	5
2,1,2	Reactivos y material de laboratorio.	5
2,2	Técnicas experimentales utilizadas.	6
2,2,1	Potenciometría.	6
2,2,1,1	Valoraciones potenciométricas ácido-base.	6
2,2,1,2	Electrodos indicadores del pH.	10
2,2,2	Cromatografía.	12
2,2,2,1	Cromatografía de intercambio iónico.	13
2,2,2,2	Cromatografía en placa delgada.	17
2,2,3	Espectrofotometría.	21
2,2,3,1	Ley de Bouger-Lambert.	22
2,2,3,2	Ley de Beer.	23
2,3	Desarrollo de la parte experimental.	27
2,3,1	Determinación de la pureza del colorante y cálculo de su R_f .	27
2,3,1,1	Tratamiento previo de la misma y determinación de su capacidad de intercambio.	27

	Págs.
2,3,1,2 Transformación del colorante a la forma H^+ y valoración potenciométrica.	28
2,3,1,3 Cálculo de R_f .	35
2,3,2 Estudio espectrofotométrico del amaranto.	35
2,3,2 Determinación del espectro de absorción del amaranto.	35
2,3,2,2 Verificación de la ley Lambert-Beer.	36
2,3,3 Extracción y separación del amaranto contenido en diversas gelatinas.	36
2,3,4 Determinación del colorante extraído de las gelatinas.	39
2,3,5 Discusión de resultados.	39
3.- CONCLUSIONES.	42
4.- BIBLIOGRAFIA.	43

INTRODUCCION

Desde tiempos inmemoriales, las sustancias denominadas colorantes han sido utilizadas para producir efectos de color y, por ésto, su estudio y elección han tenido primordial importancia, tanto en la rama industrial como en la de las artes. Las materias colorantes pueden ser de origen animal, vegetal o mineral. Estas sustancias pueden ser productos naturales extraídos mediante operaciones sencillas o compuestos obtenidos mediante operaciones químicas complicadas; estos últimos constituyen los llamados colorantes artificiales o sintéticos.

Muchas industrias utilizan sustancias colorantes, ya sean naturales o sintéticas; estos compuestos son de particular interés para la industria alimentaria. En ésta, las sustancias colorantes que se emplean deberán proporcionar el color deseado al alimento y, además, carecer de efectos tóxicos cuando éstos sean ingeridos.

Entre los colorantes sintéticos que producen efectos tóxicos se encuentran los compuestos del tipo azo-naftaleno (1). Algunos de ellos muestran un alto grado de especificidad a la inducción de tumores. El amaranto, denominado también rojo No. 2, es una sustancia comúnmente empleada en la industria alimentaria que pertenece a este grupo de compuestos.

En la revisión bibliográfica efectuada, se encontraron numerosos experimentos realizados en algunos animales, generalmente ratas, a las cuales se les administraron dosis variables de amaranto. Los autores observaron efectos diferentes y algunos de ellos contradictorios:

-W.A. Mannell y colaboradores, informan la significativa disminución en el crecimiento de ratas hembras y un aumento en peso en el hígado y riñón (2) A.I. Shtenberg, E.V. Gavrilenko (3) realizaron estudios sobre la influencia del amaranto en las funciones reproductivas y encontraron disminución de la fertilidad de las hembras así como efectos gonadotóxicos y embriotóxicos.

En cambio, autores como Collins (4), Nelson Arthur A. (5), M.L. Keplinger (6), Larsson K Sune (7), no encuentran anomalías notables durante el período de gestación aunque Collins menciona efectos tóxicos cuando las dosis del colorante son iguales o superiores a 30 mg/Kg.

En la bibliografía se encontraron también algunos estudios realizados sobre los efectos del rojo No. 2 en los niveles de calcio, magnesio y fósforo en el organismo de ratas. Hirano (8), no encontró ninguna anomalía aparente aunque Ohmori Takako y colaboradores (9), al comparar resultados con los animales control, observaron menor digestibilidad de nitrógeno en los animales de prueba así como también menos acumulación de fósforo en huesos.

En una revisión general de los efectos tóxicos de diversos colorantes, realizada por Radomski (10), se informa que el rojo No. 2 produce daños en el hígado que incluyen vacuolización y degeneración de grasas acompañadas por un aumento de albúmina en suero y β globulina (11).

Por otra parte, estudios publicados en la literatura rusa indicaron que el rojo No. 2, administrado oralmente, puede ser carcinogénico (12).

Los resultados encontrados por los autores - que en ocasiones son contradictorios - pudieran ser atribuidos a diversos factores:

a) La variación de colorante retenido en el organismo. En efecto, existen algunas evidencias de que estos colorantes son menos dañinos cuando son excretados cuantitativamente en bilis (13); sin embargo, la excreción biliar de colorantes no muestra un patrón regular y puede variar con la administración de sustancias como neomicina y tetraciclina (14). De los resultados obtenidos por Radomski (14), puede inferirse que el amaranto es uno de los colorantes que se retiene en menor cantidad.

b) Formación de metabolitos: Radomski (14), informa la absorción en pequeñas cantidades de uno de ellos: el ácido 1-ámico-4 naftensulfónico.

c) Impurezas: Debido a que los efectos cancerígenos no son demostrados plenamente en los experimentos realizados en perros, ratas y ratones, es posible que los efectos reportados anteriormente sean debidos a impurezas (15).

d) Descomposición del colorante en los alimentos (16).

En adición a lo anterior se tienen noticias de que el amaranto ha sido prohibido por la legislación de algunos países. Sin embargo, el amaranto es uno de los colorantes, que se utiliza frecuentemente en la preparación de refrescos, dulces, mermeladas, jugos, gelatinas, etc.

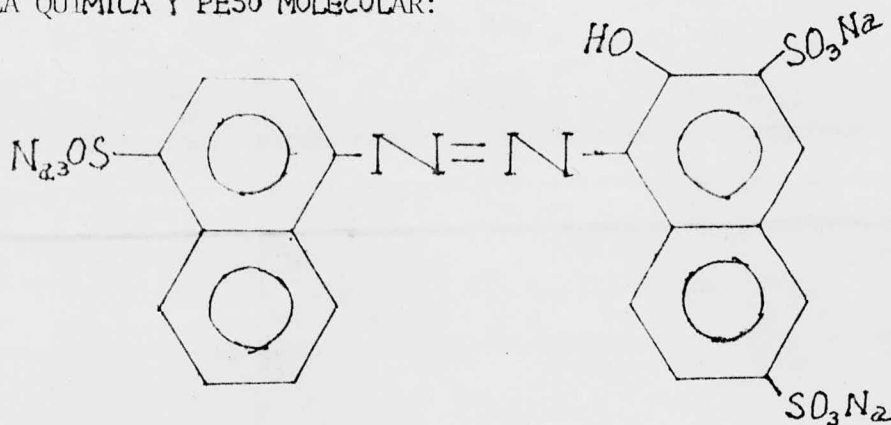
Por lo anterior es de interés determinar el contenido del rojo No. 2 en estos productos. En el desarrollo del presente trabajo se seleccionó la gelatina por ser un producto aparentemente inócuo, que se recomienda en la dieta de enfermos y niños y cuyo consumo en el país es alto.

A M A R A N T O

NOMBRE QUIMICO:

El amaranto es la sal trisódica del ácido 3-hidroxi-4 [(4-sulfo-1-naftalenil) azo] -2,7-naftalendisulfónico.

FORMULA QUIMICA Y PESO MOLECULAR:



$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_3S_3$

PESO MOLECULAR: 604.5

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DE LA SUSTANCIA PURA:

El amaranto es un sólido de color café rojizo, ligeramente soluble en agua (7.2 g / 100 ml a 26°C) y muy soluble en etanol.

La solución acuosa posee un color rojo vivo que se intensifica en medio alcalino y que no sufre ninguna variación aparente en medio ácido; la solución acuosa es estable a la luz.

PRODUCCION Y USOS:

El amaranto fué obtenido por primera vez, por H. Baum en 1878. Es posible sintetizarlo por medio de una reacción de copulación diazoando el ácido naftínico (ácido 1-naftilamina-4-sulfónico) con el ácido 2-naftol-3,6 disulfónico.

Richter, 1958 y Zukerman (1964) reportaron que éste es el proceso usado para la producción comercial.

El amaranto se usa para teñir fibras textiles, papel, resinas fenol-formaldehido, lana y piel; también se reporta su uso como indicador en titulaciones con hidrazina y en fotografía de color.

En 1955, la sociedad de investigación alemana, informó que el uso del amaranto había sido aprobado como colorante de alimentos en muchos países del mundo, con excepción de Finlandia, Yugoslavia y Rusia.

Zuckerman, (1964), reportó que en Estados Unidos se usa el amaranto para colorear gelatinas, postres, bebidas, dulces, etc.; se utiliza también en tabletas, cápsulas, enjuagues bucales, sales de baño y enjuagues para el cabello.

DOSIS:

La FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, (la cual proporciona información concerniente a la regulación de sustancias químicas usadas en alimentos), recomienda una dosis diaria permisible para el hombre de 0 - 0.75 mg/Kg. de peso.

2 PARTE EXPERIMENTAL

2,1 Medios Experimentales Utilizados.

2,1,1 Equipos.

La valoración potenciométrica del colorante se efectuó con un pH-metro Beckman Century SS-1 empleando un electrodo combinado (vidrio, Ag/AgCl).

Se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer Modelo 202 para el estudio espectrofotométrico del amaranto.

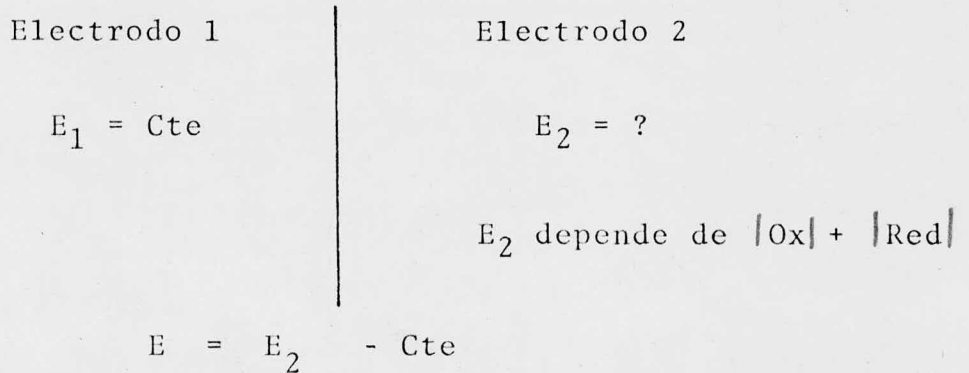
2,1,2 Reactivos y Material de Laboratorio.

- Amaranto o Rojo No. 2 (Warner Jenkinson, S.A. de C.V.)
- Amaranto Alemán (proporcionado por los laboratorios Merck)
- Resina Catiónico Dowex 50 x 8.
- HCl R.A. Merck.
- NaOH R.A. Merck.
- NaCl R.A. Merck.
- Metanol Comercial purificado por destilación. (Previa deshidratación con Potasa).
- Acetato de Amonio R.A. Merck.
- Celulosa Microcristalina para Cromatografía en capa delgada Merck.
- Propanol R.A. Baker.
- Acetato de etilo comercial purificado por destilación. (Previo tratamiento con carbonato de sodio).
- Placas de vidrio de 20 x 10 cm.
- Matraces aforados de 10, 25 y 50 ml.
- Buretas de 25 ml.
- Material de uso común.
- Balanza Analítica Mettler H54 A.R.

2,2 Técnicas experimentales utilizadas

2,2,1 Potenciometría

La potenciometría consiste en medir, a intensidad constante o nula, la diferencia de potencial entre dos electrodos. Frecuentemente el potencial de uno de ellos es constante y su valor se conoce; de esta manera es posible conocer fácilmente el potencial del segundo electrodo y, consecuentemente, la actividad de las especies electroactivas presentes en una disolución.



La forma más importante de potenciometría es aquella que se efectúa a corriente nula. En estas condiciones el potencial medido corresponde al potencial de equilibrio dado por la ecuación de Nernst que relaciona, de manera simple, dicho potencial con la concentración de las especies en solución.

$$E_2 = E^0_{Ox/Red} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{|Ox|}{|Red|}$$

Los métodos potenciométricos son exclusivamente métodos indicadores que dan información sobre la composición de una solución sin que se efectúe ninguna modificación de ella.

2,2,1,1 Valoraciones potenciométricas ácido-base

La potenciometría puede ser utilizada para detectar el punto de equivalencia en una reacción de valoración. La

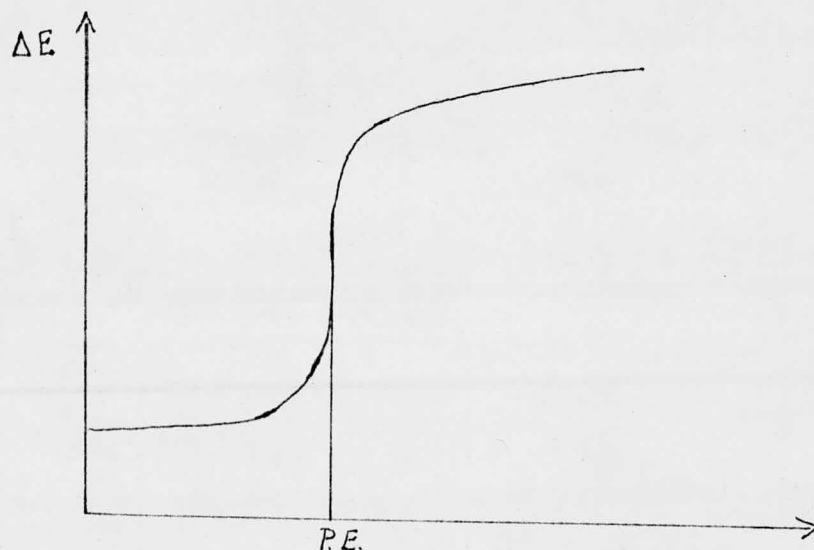
realización práctica de una valoración consiste en introducir en la solución cantidades conocidas del reactivo valorante en intervalos de tiempo regulares. Estas adiciones, pueden efectuarse mediante una bureta (volumetría) o bien mediante la preparación coulombimétrica del reactivo "in situ". La diferencia de potencial, ΔE , medida después de cada adición, se representa en función de los volúmenes añadidos y se traza la curva correspondiente. El problema consiste en caracterizar, lo mas exactamente posible, el punto en el cual las especies reaccionantes se encuentran presentes en cantidades equivalentes y que coincida con el punto de inflexión de la curva de valoración.

Este punto de equivalencia puede ser establecido en diferentes formas:

a) Por el cálculo de la fuerza electromotriz, ΔE , que se obtendría en el punto de equivalencia o por una medida previa utilizando disoluciones patrón.

b) Determinación gráfica del punto de inflexión.

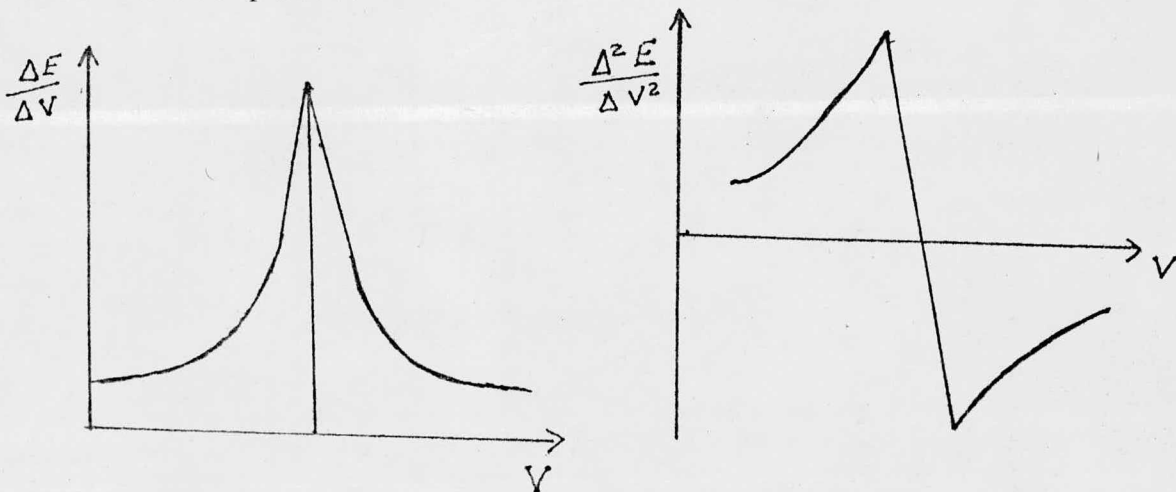
El método mas directo consiste en la estimación del punto medio en la porción de la curva de mayor pendiente. Si en las cercanías del punto de equivalencia esta pendiente es grande, es fácil determinar con precisión el volumen de valorante que corresponde a dicho punto (P.E.)



Una primera valoración rápida permite localizar la región correspondiente al P.E. Es conveniente efectuar una segunda valoración en la que, en las cercanías del punto de equivalencia y cuando el pH varía mas bruscamente, se añaden porciones pequeñas y conocidas del valorante; ésto permite seguir con mayor precisión las correspondientes variaciones de ΔE .

Otro procedimiento gráfico consiste en trazar la curva de variación de la primera derivada (determinada en forma aproximada por comparación de las relaciones $\frac{\Delta E}{\Delta V}$) para la cual el máximo corresponde al P.E. (el mayor incremento de la fuerza electromotriz para un mismo volumen añadido).

La curva de variación de la segunda derivada se anula para ese mismo punto.

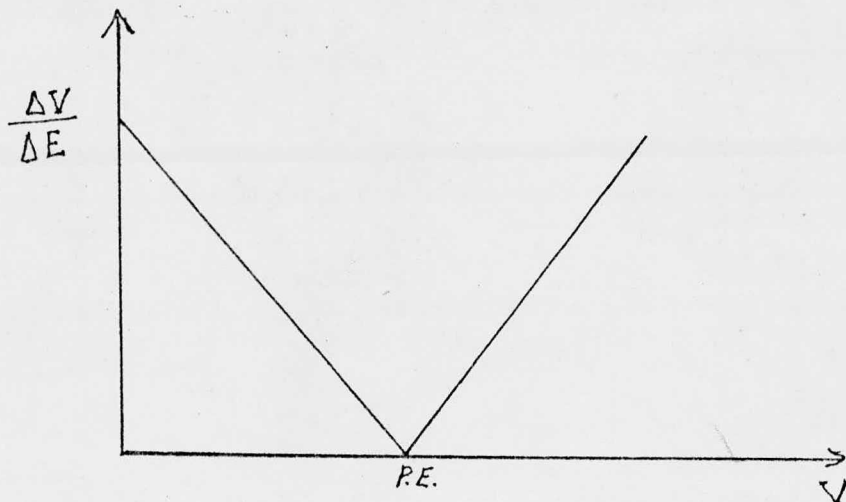


c) Método de Gram.

Este método se basa en el estudio de la curva $\frac{\Delta V}{\Delta E}$ en función del volumen del titulante añadido. En ocasiones, esta relación es menos fácil de calcular que su inversa $\frac{\Delta E}{\Delta V}$, debido a que los valores de ΔE no son enteramente uniformes.

Con este método y para una potenciometría clásica las curvas obtenidas están constituidas por dos líneas rectas que

cortan, cada una, el eje de los volúmenes en el punto de equivalencia. Generalmente se produce una desviación a estas rectas cercanas al punto de equivalencia; pero, una extrapolación de las porciones rectilíneas permite encontrar el volumen que corresponde al P.E.



Cabe mencionar que la introducción de procedimientos automáticos de valoración potenciométrica simplifican considerablemente este trabajo; sin embargo, estas técnicas no serán descritas aquí por no haber sido utilizadas en el presente trabajo.

Las valoraciones potenciométricas ácido-base representan un caso particular de las antes mencionadas; se basan en la medida del pH de la disolución en el transcurso de la valoración. Al valorar un ácido con una base o una base con un ácido, es posible preveer varias etapas:

a) Antes de la adición del reactivo valorante: el pH del ácido (o la base) a dosificar.

b) Antes del punto de equivalencia: están presentes el ácido o la base y su base o ácido conjugados y, por tanto, el pH está fijado por esta mezcla.

c) En el punto de equivalencia: la sal formada, enteramente disociada, interviene en el pH por las dos especies que la constituyen (a menudo la acción de estas es nula y el pH depende del disolvente).

d) Después del punto de equivalencia; el exceso de ácido (o de base) se encuentra en presencia de la sal disociada lo que a menudo da por resultado una mezcla de dos ácidos (o de dos bases) de fuerzas diferentes y por tanto, el más fuerte fija el pH. También se puede tener una disolución de pH amortiguado por ácido y base conjugadas de un mismo par.

2,2,1,2 Electrodo utilizado en valoraciones ácido-base.

Para valoraciones pH-métricas se utiliza un electrodo de referencia (por ejemplo, electrodo de calomel saturado) y un electrodo indicador del pH. Los electrodos indicadores utilizados para seguir una valoración potenciométrica deben dar, en todo momento, respuestas estables y reproducibles; esto implica que el equilibrio de potencial del electrodo con la disolución se establezca rápidamente.

En pH-metría, cuando se trabaja en medio acuoso, estas exigencias se satisfacen en forma relativamente fácil utilizando electrodos de vidrio.

Generalmente los electrodos de vidrio comerciales, presentan una respuesta correcta desde valores de pH muy ácidos (-1 a 0) hasta valores de pH comprendidos entre 9 y 12 (este intervalo depende de la concentración y la composición del medio). Los iones Na^+ son particularmente desfavorables para una respuesta correcta del electrodo y, si la concentración en iones alcalinos es muy elevada, podría ser necesario utilizar electrodos fabricados en vidrio especial.

El electrodo de vidrio pertenece al importante grupo de los electrodos específicos y su construcción es similar a la de todos ellos. Consiste en un tubo de vidrio terminado en una membrana de vidrio especial que tiene la propiedad particular de ser selectivo a los iones H^+ , es decir que la corriente a través de la membrana es conducida por

estos iones. El tubo se llena con una disolución que contiene una solución de pH fijo. El contacto eléctrico se establece por un electrodo de referencia interno sumergido en esta disolución.

Cuando el electrodo se sumerge en una disolución, X, que contiene iones H^+ , en concentración diferente a la de la disolución que llena el electrodo, se establece un ΔE que depende de la diferencia de pH entre ambas disoluciones.

Además de la respuesta a esta diferencia de pH el electrodo de vidrio pone en juego un potencial parcialmente constante llamado potencial de asimetría, que puede ser del orden de 10 mv y que depende de la composición de la membrana, de su forma y de las condiciones de fabricación.

El potencial de un electrodo de vidrio esta dado por:

$$E = E_R + E_A - 0.058 (pH_X - pH_i) \text{ } 20^\circ C$$

E_R = Potencial del electrodo de referencia interna

E_A = Potencial de asimetría

pH_X = pH de la disolución X

pH_i = pH de la disolución que llena el electrodo.

Aunque el pH de esta disolución no se conoce es posible suponer que tiene un valor constante ya que en su preparación se utilizan materiales estables.

En estas condiciones es posible representar todos los términos virtualmente constantes en un término colectivo E^* y la expresión se reduce a:

$$E = E^* - 0.058 \text{ pH}_X \quad \text{a } 20^\circ\text{C}$$

Sin embargo, el potencial de asimetría y el pH de la disolución que llena el electrodo es variable con el tiempo y, por tanto, es necesario que antes de utilizar el electrodo de vidrio se calibre con una disolución amortiguadora de pH conocido.

Aunque es posible utilizar otros electrodos indicadores del pH (electrodo de quinhidrona, hidrógeno, etc.); el electrodo de vidrio es el más comúnmente empleado en valoraciones ácido-base.

2,2,2 CROMATOGRAFIA

En forma general el término cromatografía se utiliza para referirse a la separación de los componentes de una muestra debido a la diversa distribución de los mismos entre dos fases: una estacionaria y la otra móvil. Dependiendo de la naturaleza de las fases estacionaria y móvil que se empleen se tienen diversos tipos de cromatografías que pueden ser clasificadas siguiendo criterios diversos.

Una forma de clasificación de los procesos cromatográficos es la de tomar en consideración el equilibrio que se lleva a cabo en el proceso de distribución y que, a su vez, está gobernada por el tipo de fase estacionaria. Estos equilibrios son los de:

- 1) Adsorción
- 2) Solubilidad
- 3) Intercambio iónico.
- 4) Penetración de poro.

El mecanismo de la mayor parte de los procesos cromatográficos resulta de la combinación de varios de estos equilibrios y, por tanto, una clasificación de este tipo es muy general.

Existen otras clasificaciones de las diversas técnicas cromatográficas, sin embargo, todas ellas son arbitrarias ya que no existe consistencia alguna en los criterios de clasificación y, aún en la forma de denominarlas existen variantes. Por ejemplo, pueden ser denominadas de acuerdo con el soporte sólido utilizado (cromatografía en papel, cromatografía de gel), con la naturaleza de la fase móvil empleada (cromatografía de gases), según la técnica de laboratorio usada para llevar a cabo la separación (cromatografía ascendente y descendente), el recipiente que contiene la fase estacionaria (cromatografía en columna y en placa) o el proceso involucrado (adsorción, partición, etc.).

Algunos tipos de cromatografías, como la cromatografía de gases, son considerados como técnicas individuales.

A continuación nos referiremos exclusivamente a las dos técnicas cromatográficas utilizadas en el desarrollo experimental de este trabajo = Cromatografía de intercambio iónico y cromatografía en placa fina.

2,2,2,1 Cromatografía de intercambio iónico.

La fase estacionaria en cromatografía de intercambio iónico esta formada por una resina intercambiadora de iones constituida por una red tridimensional de alto polímero, a menudo poliestireno, sobre el cual se insertan grupos funcionales ionizables de tipo específico y que le confieren la propiedad de intercambiar iones.

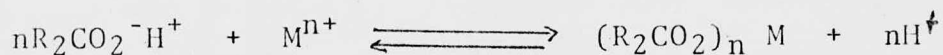
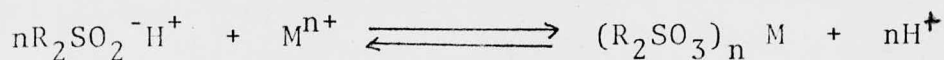
De acuerdo al signo de la carga del grupo funcional pueden distinguirse dos categorías de resinas:

a) Resinas intercambiadoras de cationes: sulfonato $-\text{SO}_3^-$; carboxilato $-\text{CO}_2^-$, aminodiacetato $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2^-)$, fos-

fonato $-\text{PO}_3^{2-}$ etc.

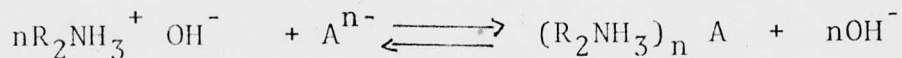
b) Resinas intercambiadoras de aniones: amonio terciarias $-\text{NR}_2\text{H}^+$, fosfónio $= \text{PR}^+$, amonio cuaternarias $-\text{NR}_3^+$, etc.

Generalmente, los grupos funcionales de las resinas intercambiadoras de cationes se encuentran en su forma ácida y los protones de los mismo pueden ser intercambiados de acuerdo a equilibrios tales como:



donde R_2 representa la resina.

Los grupos funcionales de las resinas intercambiadoras de aniones se encuentran en su forma básica y las reacciones de intercambio pueden ser representadas por equilibrios como:



Los equilibrios de intercambio pueden ser desplazados hacia la derecha o izquierda aumentando la concentración de los iones en disolución. Por otra parte, si los grupos funcionales ácidos o básicos unidos al polímero son fuertes o débiles, el equilibrio de intercambio estará mas o menos afectado por la concentración de iones H^+ . Por tanto, las resinas tienen diferentes intervalos de pH de trabajo.

La capacidad de intercambio de una resina es el número total de equivalentes sustituibles por unidad de masa de resina. La capacidad de una resina puede ser expresada en número de equivalentes gramo por litro de resina húmeda o por kilogramo de resina seca. Es mas reproduc

ble y, por tanto, mas significativo referirse a una cantidad unitaria de resina seca en una forma determinada (protones para resinas intercambiadoras de cationes y cloruro para las resinas intercambiadoras de aniones).

Por tanto nosotros referiremos la capacidad de la resina en número de equivalentes gramo por kilogramo o miliequivalentes gramo por gramo de resina seca.

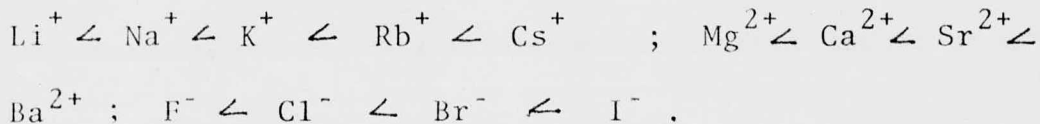
SELECTIVIDAD

La selectividad o equilibrio de las reacciones de intercambio se ve afectada por un gran número de factores:

a) En disoluciones acuosas de concentraciones bajas, mientras más altamente cargado sea el ión, mayor será su afinidad por la resina; se encuentran así afinidades relativas tales como: $\text{Na}^+ \angle \text{Ca}^{2+} \angle \text{La}^{3+} \angle \text{Th}^{4+}$,

b) Para iones con igual carga y en concentraciones acuosas bajas, mientras más pequeño es el ión hidratado mayor es su afinidad por la resina,

El tamaño del ión hidratado puede cambiar en forma inversa a la de los iones sin hidratar; generalmente en el tamaño de éstos decrece conforme aumenta su carga; por tanto, con frecuencia, un aumento en el número atómico da como resultado un aumento en la afinidad. Así las afinidades relativas para algunos iones que tienen la misma carga son:



c) Cuanto mayor sea el entrecruzamiento de la resina, es mayor la diferencia en las selectividades de los iones. Generalmente, el entrecruzamiento aumenta también la rigi-

dez de la resina, y reduce la porosidad y la solubilidad de la misma. En general, se emplean materiales de porosidad media para especies iónicas de bajo peso molecular y materiales de alta-porosidad para especies iónicas de alto peso molecular. Los fabricantes expresan el grado de entrecruzamiento como un porcentaje de divinilbenceno y con frecuencia se utilizan con grados de entrecruzamiento de 8 a 10%.

d) En concentraciones altas, la diferencia en la selectividad de los iones de diferente carga disminuye y en algunos casos, el ión de menor carga podrá tener la mayor selectividad por ejemplo, $\text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+}$.

e) A altas temperaturas, en medio no acuoso, o altas concentraciones, la selectividad de los iones de cargas si milares no aumenta cuando aumenta el número atómico; pero son muy similares e inclusive decrecen cuando se tienen nú meros atómicos altos.

f) Iones orgánicos de alto peso molecular y aniones com plejantes de iones metálicos exhiben raramente alta selectivi dad.

A continuación se indican los órdenes de afinidad para algunos iones:

$\text{Cs}^+ \angle \text{Ag}^+ \angle \text{Tl}^+$ (después de los metales alcalinos dados en el inciso b).

$\text{Be}^{2+} \angle \text{Mn}^{2+} \angle \text{Mg}^{2+} \angle \text{Zn}^{2+} \angle \text{Co}^{2+} \angle \text{Cu}^{2+} \angle \text{Cd}^{2+} \angle \text{Ni}^{2+} \angle \text{Ca}^{2+} \angle$
 $\text{Sr}^{2+} \angle \text{Pb}^{2+} \angle \text{Ba}^{2+}; \text{OH}^- = \text{F}^- \angle \text{OAc}^- \angle \text{HCO}_2^- \angle \text{H}_2\text{PO}_4^- \angle$

$\text{HCO}_3^- \angle \text{Cl}^- \angle \text{NO}_2^- \angle \text{HSO}_3^- \angle \text{CN}^- \angle \text{Br}^- \angle \text{NO}_3^- \angle \text{HSO}_4^- \angle \text{I}^-$

Es evidente que los intercambiadores ácidos y bases débiles tienen mayor afinidad por los protones y los iones hidroxilo, que la que tienen los ácidos y bases fuertes.

Los órdenes de selectividad dados anteriormente son a proximados ya que pueden ser afectados por la fuerza iónica, la formación de complejos, por las concentraciones relativas y la naturaleza de la resina así como por variaciones de los valores del pH.

2,2,2,2 CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

Experimentalmente, la cromatografía en placa fina se distingue de otras técnicas experimentales por estar constituida de una hoja de vidrio, metal o plástico que sirve como soporte para una fase estacionaria en polvo. A través de esta fase estacionaria se mueve el eluyente por acción capilar.

Originalmente la cromatografía en placa delgada hacía intervenir únicamente, un proceso de equilibrio de adsorción y en la mayoría de sus aplicaciones éste ha sido el mecanismo de separación; sin embargo, actualmente los procesos de equilibrio sobre el cual se basan las separaciones puede ser adsorción, partición, intercambio iónico o filtración en gel.

Por otra parte el proceso de separación es rápido y muy eficiente y el equipo necesario para efectuar una cromatografía en placa fina es extremadamente sencillo y barato. Por lo anterior la cromatografía en capa delgada tiene una amplia aplicación en separaciones con fines de identificación preparativas.

VARIABLES EXPERIMENTALES.

a) Hojas soportes o placas. La única función de las placas es la de proporcionar una superficie plana sobre la cual se adhiera la fase estacionaria y, por tanto, los requisitos que éstas deben llenar es la de proporcionar una superficie rígida y limpia. La mayoría de los soportes son hojas de vidrio o platinas y las cromatoplacas que se expenden en el

comercio tienen soportes de acero inoxidable, aluminio o plástico.

b) Fases estacionarias.

La fase estacionaria utilizada en cromatografía en capa delgada es un polvo fino. La función de éste puede ser la de actuar, por sí mismo, como absorbente o bien la de absorber o soportar una película fina de un líquido, un intercambiador iónico o una malla molecular. Las restricciones para estas fases estacionarias son mucho más severas que las requeridas en cromatografía en columna: se necesita que sean más porosas, con un tamaño de partícula más pequeño (5 a 50 μ) y con un menor intervalo de variación de éste.

El tamaño de partícula de la fase estacionaria y la densidad del empaque dentro de la placa determina el flujo del disolvente a través de la misma; así, el flujo es mucho más lento sobre partículas de 0.1 a 10 μ que sobre partículas de 10 a 40 μ . Se emplea un aglutinante, por ejemplo, alcohol polivinílico, para adherir la fase estacionaria al soporte.

Las placas se preparan esparciendo una suspensión acuosa del adsorbente sobre una placa soporte, de tal manera que se obtenga una capa cuyo espesor varía de 0.1 a 0.3 mm. Una vez que el disolvente se ha evaporado, se activa la capa de adsorbente secando la placa a la estufa a 110°C. Las placas así activadas se almacenan en un desecador.

Adsorbentes.

El adsorbente más comúnmente empleado en cromatografía en placa delgada es la sílica gel, la cual se emplea para separar compuestos polares tales como aminoácidos, azúcares, etc.

Cuando se desean separar compuestos polares débiles se prefiere la alúmina. También pueden ser empleados otros adsorbentes como el silicato de magnesio, silicato de calcio, carbón activado, celulosa y también poliamidas tales como el per-

lón y el nylon.

d) Fase móvil.

Cuando se tiene una mezcla desconocida, la selección de la fase móvil se lleva a cabo fácil y rápidamente efectuando algunas pruebas previas con eluyentes de polaridades diferentes y utilizando placas pequeñas. Siempre que ésta sea posible, es preferible utilizar como eluyente un líquido puro. Sin embargo, cuando esto no sea factible y se requiera emplear varios disolventes se recomienda emplear una mezcla con el menor número posible de componentes. Es esencial en cromatografía en placa delgada que los disolventes tengan una alta pureza.

VALORES DE R_f .

En general, los valores de R_f obtenidos en separaciones por cromatografía en placa delgada son menos confiables y reproducibles que los obtenidos por otras técnicas, incluyendo cromatografía en papel. Para emplear esta técnica en identificaciones más significativas, es esencial correr los estándares y el problema al mismo tiempo, preferentemente en la misma placa.

La magnitud de los valores de R_f está determinada por las propiedades físicas y químicas del compuesto químico involucrado, (el soluto), por el adsorbente y por el eluyente. A continuación se mencionan algunos de los factores que afectan esta magnitud:

Efecto del adsorbente sobre los valores de R_f .

El adsorbente puede afectar de muchas maneras los valores de R_f . Es bien conocido que los valores de R_f pueden variar dependiendo de la identidad del adsorbente; por ejemplo, los valores de R_f obtenidos sobre sílica gel serán

diferentes a los valores de R_f obtenidos sobre silicato de magnesio. Por otra parte y, en general, las separaciones en cromatografía en placa delgada dependen de la adsorción y, en consecuencia, la superficie del adsorbente es crítica para la eficiencia de la separación y su reproducibilidad.

Efecto del disolvente sobre los valores de R_f .

No solo la naturaleza del disolvente sino también su pureza, pueden tener efecto sobre los cambios de valores de R_f .

Efecto del soluto sobre los valores de R_f .

Es evidente que las propiedades químicas del soluto afectarán la extensión de su adsorción y en consecuencia su valor de R_f .

2,2,3 ESPECTROFOTOMETRIA

Los términos absorciometría o espectrofotometría de absorción pueden ser aplicados refiriéndose a que en diversidad de métodos, en los cuales un haz luminoso de una cierta longitud de onda se mide después de pasar a través de una sustancia. Generalmente esta última es una solución pero puede también ser un gas o un sólido.

El espectro electromagnético cubre un amplio intervalo de longitudes de onda que van desde las radiaciones más energéticas (rayos γ) hasta las de frecuencias menores de radio ondas.

Dependiendo del intervalo de frecuencia involucrado y de las transiciones que la radiación absorbida produzca; las técnicas espectrofotométricas son muy diversas y cada una de ellas es motivo de particular estudio.

Nos referiremos únicamente a las medidas relacionadas con la absorción molecular de radiación en la zona del espectro comprendida entre 200 nm y 1 μ (desde ultravioleta y visible hasta principios del Infrarrojo).

El método se conoce con los nombres de fotometría de absorción, espectrofotometría, y más generalmente aunque en forma impropia, colorimetría.

La absorción molecular en la región ultravioleta y visible del espectro depende de la estructura electrónica de la molécula; la absorción de radiación provoca el paso de los electrones desde orbitales de baja energía hasta un estado excitado, en orbitales de mayor energía. Debido a que la absorción de energía está cuantizada, numerosas estructuras electrónicas no muestran absorción en todas las regiones del espectro electromagnético y, en la práctica la absorción de energía U.V. visible se limita a sistemas conjugados.

Sin embargo, esto no constituye un problema; por el contrario, es una ventaja para la selectividad de la absorción.

En efecto, las características principales de una banda de absorción son su precisión e intensidad: La posición de absorción corresponde a la

longitud de onda de radiación cuya energía es igual a la requerida para una transición electrónica y es así como grupos característicos pueden ser reconocidos en moléculas de complejidades diversas.

La intensidad de absorción depende grandemente de dos factores:

La probabilidad de interacción entre la energía de radiación y el sistema electrónico y la polaridad del estado excitado; la medida de la radiación absorbida por una sustancia, en una longitud de onda determinada, hace posible la cuantificación de dicha sustancia (con o sin separaciones previas).

Una expresión conveniente de esta intensidad de absorción se deriva de las leyes que a continuación se indican:

LEY DE BOUGER - LAMBERT

La ley de Bouger-Lambert establece que la relación que hay entre la intensidad luminosa transmitida, o poder radiante, P , y el poder radiante incidente P_0 , es una función de la longitud del paso óptico, b , a través del medio absorbente, se puede demostrar que:

$$P = -k_1 P \Delta b$$

En donde: ΔP es un incremento pequeño en el cambio del poder radiante ocasionado por un pequeño incremento en el paso óptico Δb . El signo menos indica que el cambio involucra un decremento en el poder radiante. Así tenemos:

$$-\frac{\Delta P}{P} = k_1 \Delta b \quad -\frac{dP}{P} = k_1 db$$

Integrando entre los límites P y P_0 y, para la longitud de paso óptico b y 0 , se tiene:

$$-\int_{P_0}^P \frac{dP}{P} = \int_0^b k_1 db$$

$$\ln \frac{P_0}{P} = k_1 b \quad \text{y} \quad \log \frac{P_0}{P} = k_2 b$$

con

$$\frac{P_0}{P} = 10^{k_2 b}$$

Así, el poder radiante transmitido P varía exponencialmente con respecto a b y directamente con respecto a P_0 . En un sentido estricto, esta ley únicamente es válida para radiación monocromática.

LEY DE BEER

Beer estudió la situación desde el punto de vista del efecto de la concentración de la especie absorbente sobre la intensidad luminosa transmitido, manteniendo una longitud de paso óptico, b , constante. Indicó que el poder radiante transmitido P varía exponencialmente en función de la concentración y directamente con respecto al poder radiante incidente P_0 . La expresión matemática de esta ley, se deriva de la misma manera que la ley de Bouger-Lambert.

$$\log \frac{P_0}{P} = k_3 c$$

con

$$\frac{P_0}{P} = 10^{k_3 c}$$

De una manera fácil se puede demostrar matemáticamente que estas dos leyes pueden combinarse para dar la siguiente relación:

$$\log \frac{P_0}{P} = Kbc$$

con

$$\frac{P_0}{P} = 10^{Kbc}$$

Nuevamente, esta ley es válida únicamente para radiación monocromática. Si c se expresa en gramos por litro y b en centímetros, la constante K se reemplaza por a y se denomina absortividad. Cuando c se expresa en moles por litro y b en centímetros, K se reemplaza por ϵ , y se llama absortividad molar (b puede reemplazarse por 1). Los términos mas usuales relativos a la absorciometría son:

- 1.- $\log P_0/P = abc = \epsilon lc = A$. A se llama ABSORBANCIA.
- 2.- $P/P_0 = 10^{-abc} = 10^{-\epsilon lc} = T$. T se llama TRANSMITANCIA.
- 3.- $P/P_0 \times 100 = \%T$. %T se llama PORCIENTO DE TRANSMITANCIA.

Cuando se representa gráficamente la absorbancia en función de la concentración, para una longitud de paso óptico dada y en un intervalo de concentraciones en el cual se cumpla la ley de Beer, se obtiene una línea recta de pendiente ab. o ϵl .

En una curva de transmitancia vs. concentración, obtenida en condiciones similares, se observa una curva exponencial; pero, la representación gráfica de $-\log T$ vs c producirá una línea recta de pendiente ab. o ϵl .

La mayoría de los aparatos espectrofotométricos incorporan escalas de absorbancia y de por ciento de transmitancia ; la primera logarítmica y, la segunda, lineal.

PROPIEDADES DE LA ABSORTIVIDAD MOLAR.

De acuerdo con la ley de Beer, ϵ , es independiente de la concentración; en el caso de una solución depende de la naturaleza de la sustancia, de la longitud de onda de medida y de la temperatura a la cual ésta se efectue. En principio es independiente del disolvente.

La influencia de la temperatura sobre la absortividad molar se hace más evidente cuando la pendiente $d\epsilon/d\lambda$ de la curva $\epsilon = f(\lambda)$ es grande, por ejemplo, a los lados de la banda de absorción.

El coeficiente ϵ depende del índice de refracción n de la solución. De acuerdo con la teoría de la dispersión no es ϵ , sino la función $\frac{\epsilon n}{(n^2 + 2)^2}$, lo que es independiente de la concentración.

Importancia y validez de la ley de Beer.

Si la ley de Beer se verifica, se dispone de una magnitud medible y proporcional a la concentración de la especie cuya concentración se desea medir. Por el contrario, cuando la ley no se cumple los problemas de preparación de estándares y solución de referencia o blancos, especialmente cuando se trate de mezclas, se vuelven más complicados. Su importancia, por tanto, es evidente.

Sin embargo, esta ley es una ley límite que exige condiciones ideales tanto para el haz de luz, que debe ser monocromático, como para la solución en la cual se supone la ausencia de cualquier acción extraña del rayo luminoso sobre el cuerpo absorbente. Las posibles causas de desviación se mencionan a continuación:

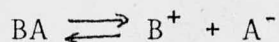
- a) Limitaciones naturales
- b) Limitaciones instrumentales
- c) Limitaciones químicas

Limitaciones naturales. El estado electrónico de la molécula o del ion absorbente puede ser perturbado por otras moléculas o iones de la misma especie y estas perturbaciones podrán ser diferentes dependiendo de la concentración. En general, se trabaja en concentraciones bajas. Este tipo de perturbaciones puede ser también aportado por las moléculas del disolvente o de otros compuestos disueltos en la misma solución.

Limitaciones instrumentales. Cuando se usa radiación policromática, ciertas longitudes de onda se absorben más fuertemente que otras. Se puede demostrar matemáticamente que mientras mayor sea la diferencia entre los valores de las longitudes de onda máxima y mínima para la radiación incidente policromática, mayores serán las desviaciones a la ley de Beer. Esta desviación no es significativa cuando se trabaja en concentraciones inferiores a $10^{-2}M$.

Esta desviación podrá ser mínima cuando estas diferencias también lo sean, es decir, en un máximo o un mínimo.

Limitaciones químicas. En ciertos casos el sistema muestra desviaciones aparentes a la ley de Beer debido a que ocurren reacciones químicas en la solución. Por ejemplo, imaginemos un sistema en donde la sustancia a determinar reacciona para producir un compuesto BA el cual participa en el equilibrio de disociación siguiente:



Si BA se disocia cuantitativamente y A^- es la especie absorbente en el sistema, la medida de absorbancia puede ser relacionada directamente a la cantidad de sustancia por determinar. Por el contrario, si el grado de disociación de BA es una función de su concentración, como en el caso de sustancias electrolitos débiles, y si el grado de disociación (en el intervalo de concentraciones necesario para propósitos analíticos) cambia significativamente, la absorbancia será una función de la concentración de A^- que, a su vez, será una función tanto de la cantidad de la sustancia a determinar como el grado de disociación de BA. En este caso se tendrá una desviación aparente a la ley de Beer. Se presentan situaciones similares cuando la concentración de la especie absorbente se ve afectada por equilibrios de complejación o de pH.

2.3 DESARROLLO DE LA PARTE EXPERIMENTAL

2.3.1. DETERMINACION DE LA PUREZA DEL COLORANTE Y CALCULO DE SU R_f

Para determinar la pureza del amaranto de uso comercial, y dado que este producto presenta propiedades ácido-base, se pensó en valorarlo alcalimétricamente por potenciometría. Sin embargo, dicho producto se expende usualmente en forma de sal trisódica y, en medio acuoso, esta base es demasiado débil, para poder ser valorada directamente con ácido. Por tanto, el producto comercial se sometió a un tratamiento previo con resina catiónica, para transformarlo a la forma H^+ , y se valoró después con base fuerte. Los detalles del procedimiento seguido se describen a continuación.

2.3.1.1. TRATAMIENTO PREVIO DE LA RESINA Y DETERMINACION DE SU CAPACIDAD DE INTERCAMBIO.

La forma de poner en condiciones de óptimo funcionamiento químico a una resina es la de mantenerla en contacto prolongado con el disolvente para permitir que alcance su equilibrio de expansión y, posteriormente, someterla a un cierto número de ciclos de intercambio.

Para ello, se tomaron 6 g . de resina seca y se colocaron en un vaso con agua. Una vez expandida la resina, se empacó con ella una columna cromatográfica la cual se mantuvo siempre húmeda para evitar la formación de espacios de aire entre los granos de resina. Se adicionó, gota a gota, una disolución de ácido clorhídrico 6 *M*, con lo cual la resina se transformó a la forma H^+ . A continuación se hizo pasar una disolución de NaCl 2 *M*, con la cual la resina se transformó a la forma Na^+ y se volvió a repetir la operación con HCl 6 *M*.

Se hizo pasar agua destilada a través de la columna hasta que el líquido efluyente no dió reacción ácida y la resina, así tratada, se desempacó y se secó en una estufa a 60°C.

Para determinar la capacidad de la resina se colocó, en un vaso de pp, 1.0177 g de resina seca y 25 ml de una disolución de cloruro de sodio 2 M. Los cuales se agitaron durante 15 min. y los H⁺, así liberados se valoraron con 34.7 ml. de NaOH 0.15 M.

En esta forma se determinó que la capacidad de la resina era de 5.13 meq por gramo de resina seca. El conocimiento de este valor permitió calcular los gramos de resina seca necesarios para la transformación del colorante.

2,3,1,2 TRANSFORMACION DEL COLORANTE A LA FORMA H⁺ Y SU VALORACION POTENCIOMETRICA.

Tomando las mismas precauciones que en el apartado anterior, se pesaron 5 g. de resina seca, (exceso de 50 veces con respecto a la cantidad teórica calculada para la transformación cuantitativa del colorante), se dejaron que se expandieran con agua y se empacó con ellos una columna de 6 mm de diámetro interior.

Por otra parte, se disolvieron 0,10546 g. de amaranto en 2 ml de agua y la disolución resultante se transfirió cuantitativamente a la columna, dejándola pasar lentamente a través de ésta. Para evitar que quedaran residuos de colorante en la resina, se hizo pasar suficiente agua destilada a través de la columna hasta que la solución efluyente fue totalmente incolora. El volumen total obtenido fue de 50 ml (concentración aproximada de colorante $3,48 \times 10^{-3}$ M.)

Una vez así transformado el colorante a su forma H⁺,

se tituló potenciométricamente con una disolución de hidróxido de sodio, haciendo las adiciones de esta en lapsos regulares.

Al representar la curva de valoración directa pH vs ml. de NaOH añadidos (figura 1a.), se tuvo un solo punto de inflexión, la representación diferencial del proceso (figura 1b), mostró un solo máximo que corresponde a un punto de equivalencia bien definido.

De acuerdo a la fórmula del amaranto, se tienen cuatro grupos ácidos: tres grupos sulfónicos y uno fenólico. En agua, los grupos sulfónicos son ácidos fuertes y los grupos fenólicos son ácidos débiles. Sin embargo, es posible que la acidez de estos grupos sea alterada por la presencia de otros grupos en posiciones vecinas. En el amaranto, esta situación se presenta en el grupo fenólico y en uno de los grupos sulfónicos, pero en la bibliografía no se encuentra ninguna información sobre las constantes de equilibrio ácido-base en que estos grupos participan. Por esto y en base a la curva de valoración experimental obtenida, es posible considerar varias posibilidades:

a) Que la relación K_a/c para los grupos sulfónicos fuera igual o superior a 8 (90% de disociación) y se tuviera, por tanto, la valoración simultánea de estos y la posterior valoración del grupo fenólico.

b) Que se valorasen únicamente los tres grupos sulfónicos y que el grupo fenólico no fuese lo suficientemente ácido para ser valorado en medio acuoso.

c) Que las diferencias existentes entre los valores de pK_a de los grupos sulfónico y fenólico fuesen pequeñas y por lo tanto se valoraran los cuatro grupos, conjuntamente.

VALORACION POTENCIOMETRICA DEL AMARANTO NACIONAL .

FIGURA 1a.- CURVA DE VALORACION DIRECTA .

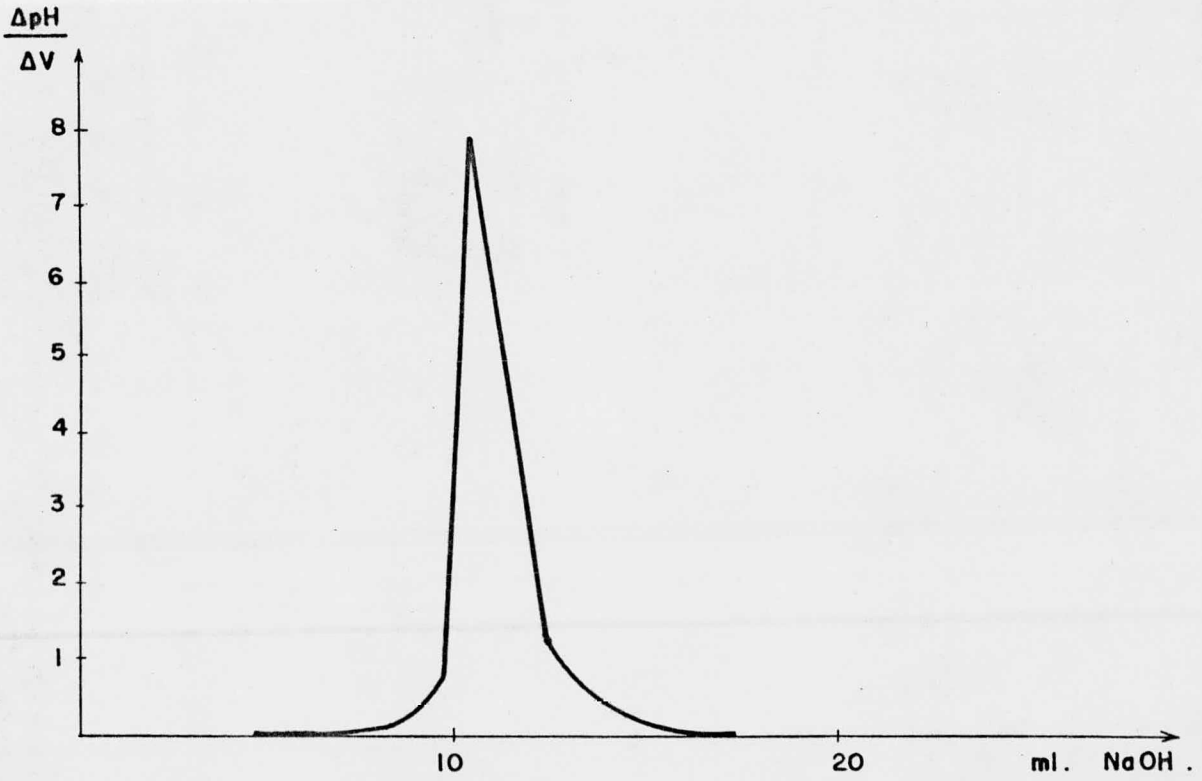
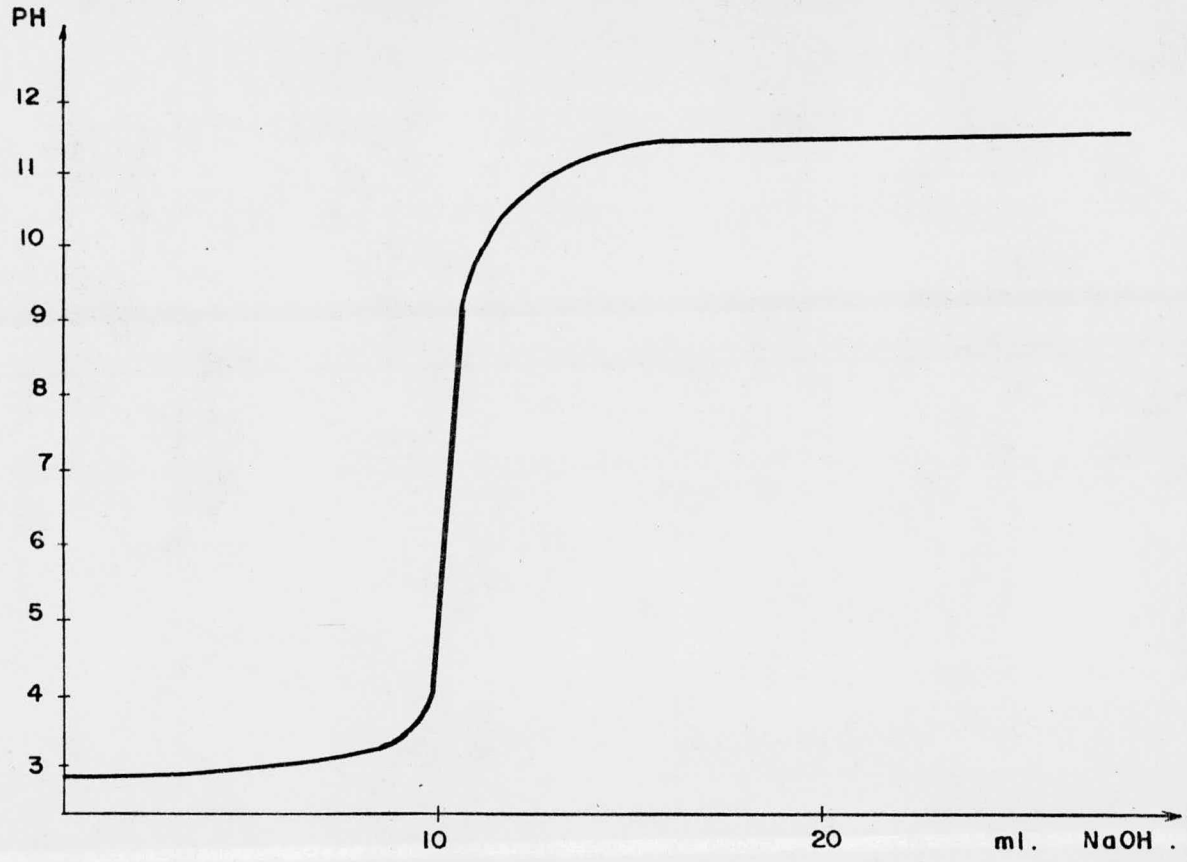


FIGURA 1b.- REPRESENTACION DIFERENCIAL DEL PROCESO .

DATOS EXPERIMENTALES

AMARANTO NACIONAL

Peso de la muestra: 0.10546 g

Volumen inicial : 50 ml

Normalidad de NaOH empleada: 5.49×10^{-2}

ml NaOH	pH	ml NaOH	pH	ml NaOH	pH
0	2.9	7.0	3.2	16.0	11.4
1.0	2.9	8.0	3.3	18.0	11.5
2.0	2.9	9.0	3.6	20.0	11.6
3.0	2.9	9.5	4.0	25.0	11.8
4.0	2.9	10.0	8.1	30.0	11.9
5.0	3.0	12.0	10.9	40.0	12.0
6.0	3.1	14.0	11.2		

$\Delta \text{pH} / \Delta v$	ml	$\Delta \text{pH} / \Delta v$	ml	$\Delta \text{pH} / \Delta v$	ml
0	1.0				
0	2.0	0.1	8.0	0.10	16.0
0	3.0	0.3	9.0	0.05	18.0
0	4.0	0.8	9.5	0.05	20.0
0.1	5.0	8.2	10.0	0.04	25.0
0.1	6.0	1.4	12.0	0.02	30.0
0.1	7.0	0.15	14.0	0.00	40.0

d) Que el valor de pK_a correspondiente al grupo fenólico fuera tal que no pudiera ser valorado cuantitativamente pero que diera lugar a un consumo parcial de reactivo y, por tanto, a un error por exceso en la valoración.

La primera posibilidad se descarta puesto que no concuerda con lo encontrado experimentalmente.

La segunda, tercera y cuarta posibilidades implican la aparición de un solo punto de inflexión. Al calcular la pureza del amaranto, tomando en consideración la segunda se obtuvo un porcentaje de pureza superior al 90%; este hecho no concuerda con el estudio realizado en placa delgada en la cual podían apreciarse impurezas en cantidades no despreciables. Al realizar los cálculos en base a la tercera posibilidad, se obtiene una pureza del reactivo del orden del 70%. Ante la alternativa presentada, se repitió el mismo proceso con una muestra de amaranto alemán que mostraba, cualitativamente, en placa delgada una pureza superior. Las curvas de valoración potenciométricas obtenidas se encuentran representadas en las figuras 2a. y 2b.

Al hacer los cálculos correspondientes para la determinación de la pureza con esta muestra se encontró un porcentaje evidentemente falso e igual a 113% al considerar la segunda posibilidad y 85% al considerar la tercera. Esto parecía indicar que esta última era la correcta. Sin embargo, al trazar las curvas teóricas correspondientes a ambas situaciones se observó que la curva experimental no concuerda exactamente con ninguna de ellas aunque parecía acercarse más a la posibilidad b pese a que la pendiente de la curva en la porción correspondiente al punto de equivalencia era menor.

Esto indujo a pensar que la cuarta posibilidad era la correcta. En efecto, si se considera que los grupos fenólicos tienen valores de pK_a en agua cercanos a 8, al alcanzar el pH correspondiente al punto de equivalencia de la

VALORACION POTENCIOMETRICA DEL AMARANTO ALEMAN .

FIGURA 2 a .- CURVA DE VALORACION DIRECTA .

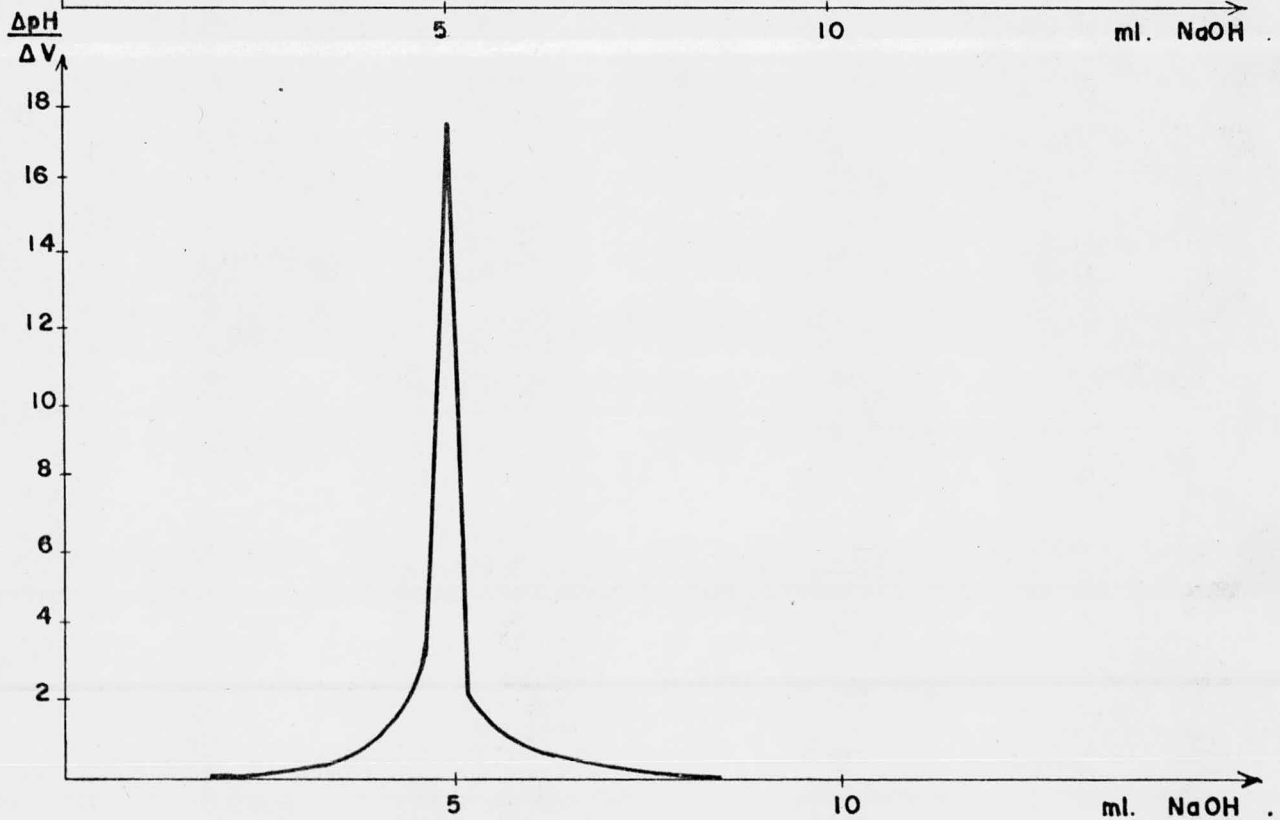
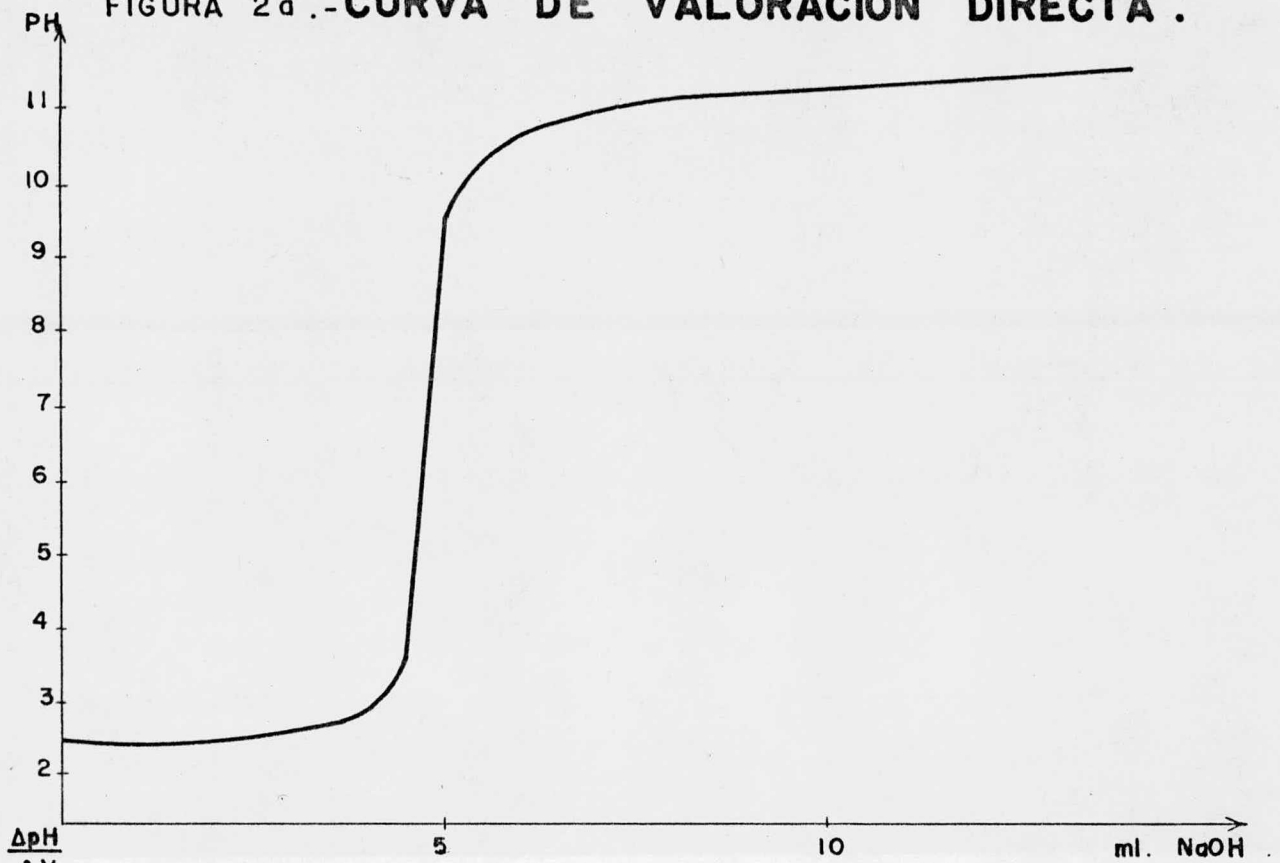


FIGURA 2 b .- REPRESENTACION DIFERENCIAL DEL PROCESO .

DATOS EXPERIMENTALES

AMARANTO ALEMAN

Peso de la muestra: 0.05342 g
Volumen inicial: 50 ml
Normalidad de NaOH empleada: 6.08×10^{-2}

ml NaOH	pH	ml NaOH	pH	ml NaOH	pH
0	2.4	4.0	2.95	6.0	10.7
0.5	2.4	4.2	3.1	7.0	11.0
1.0	2.4	4.4	3.3	8.0	11.2
1.5	2.4	4.6	3.7	9.0	11.4
2.0	2.5	4.8	6.05	10.0	11.5
2.5	2.55	5.0	9.4	15.0	11.7
3.0	2.6	5.2	10.0	20.0	12.0
3.5	2.7	5.4	10.3	25.0	12.1

$\Delta pH / \Delta v$	ml	$\Delta pH / \Delta v$	ml	$\Delta pH / \Delta v$	ml
0	0.5	1.6	4.0	1.5	5.4
0	1.0	0.75	4.2	1.0	6.0
0	1.5	1.0	4.4	0.3	7.0
0.2	2.0	2.5	4.6	0.2	8.0
0.1	2.5	11.75	4.8	0.2	9.0
0.1	3.0	16.75	5.0	0.1	10.0
0.2	3.5	2.0	5.2		

reacción de valoración de los grupos sulfónicos, una parte del grupo fenólico habrá pasado, también, a la forma básica y habrá consumido por lo tanto reactivo valorante causando un error por exceso.

En base a lo anterior y puesto que para alcanzar el punto de equivalencia de la muestra de colorante de fabricación nacional se gastaron 5 ml de NaOH 5.49×10^{-2} M, se puede considerar que la pureza máxima de este es igual a 90%.

NOTA: Para comprobar los resultados anteriores es posible utilizar un disolvente no acuoso que permita exaltar las diferencias de acidez entre los grupos sulfónico y fenólico y determinar sus correspondientes valores de pKa. Esta comprobación se dejó para una etapa posterior por no ser este el objetivo del trabajo.

2,3,1,3 CALCULO R_f

En diversas placas de celulosa, de 20 X 10 cm, se aplicaron sendas gotas de amaranto alemán y mexicano. Cada una de ellas se colocó en una cámara cromatográfica saturada con diversos disolventes, encontrándose que los mejores resultados se obtenían al utilizar como eluyente la mezcla propanol-acetato de etilo- agua, en proporciones de 15:5:30.

El cálculo de R_f se efectuó con la placa cromatográfica desarrollada con esta mezcla y se obtuvo un valor igual a 0.82.

2,3,2, ESTUDIO ESPECTROFOTOMETRICO DEL AMARANTO.

2,3,2,1, DETERMINACION DEL ESPECTRO DE ABSORCION DEL AMARANTO.

Se preparó una disolución acuosa de amaranto, en concentración 3.19×10^{-5} M. El espectro de absorción, A vs λ ,

obtenido empleando como blanco agua, se encuentra reportado en la figura No. 3 en la cual puede observarse un solo máximo de absorción que corresponde a la longitud de onda de 512 nm.

2,3,2,2, VERIFICACION DE LA LEY DE LAMBERT-BEER.

Haciendo las correcciones necesarias de acuerdo a la pureza calculada, se prepararon una serie de disoluciones que contenían diferentes concentraciones de amaranto alemán (desde 8.28×10^{-6} M hasta 3.86×10^{-5} M).

Se efectuaron las medidas de absorbancia de estas disoluciones frente a un blanco agua, en las longitudes de onda de máxima absorción y los resultados obtenidos de A vs. concentración, se encuentran representados en la figura No. 4; en ella puede observarse que en el intervalo de concentraciones estudiado se cumple la ley de Beer.

El valor de la absorptividad molar, calculada a partir de estos resultados es de 2.37×10^4 cm² mol⁻¹.

2,3,3, EXTRACCION Y SEPARACION DEL AMARANTO CONTENIDO EN DIVERSAS GELATINAS.

Las gelatinas de uso comercial que se escogieron para la determinación del rojo No. 2 fueron de las marcas: Pronto, Royal Jello. De cada una de estas marcas se seleccionó una gelatina de cada uno de aquellos sabores que por su color pudiera contener amaranto.

NOTA: Cabe mencionar que en el presente trabajo no se pretende hacer una evaluación estadística ni comparativa de las diferentes marcas de gelatina, razón por la cual las muestras fueron elegidas al azar.

La extracción del colorante de las gelatinas se efectuó en la forma indicada a continuación:

ESPECTRO DE ABSORCION DEL AMARANTO .

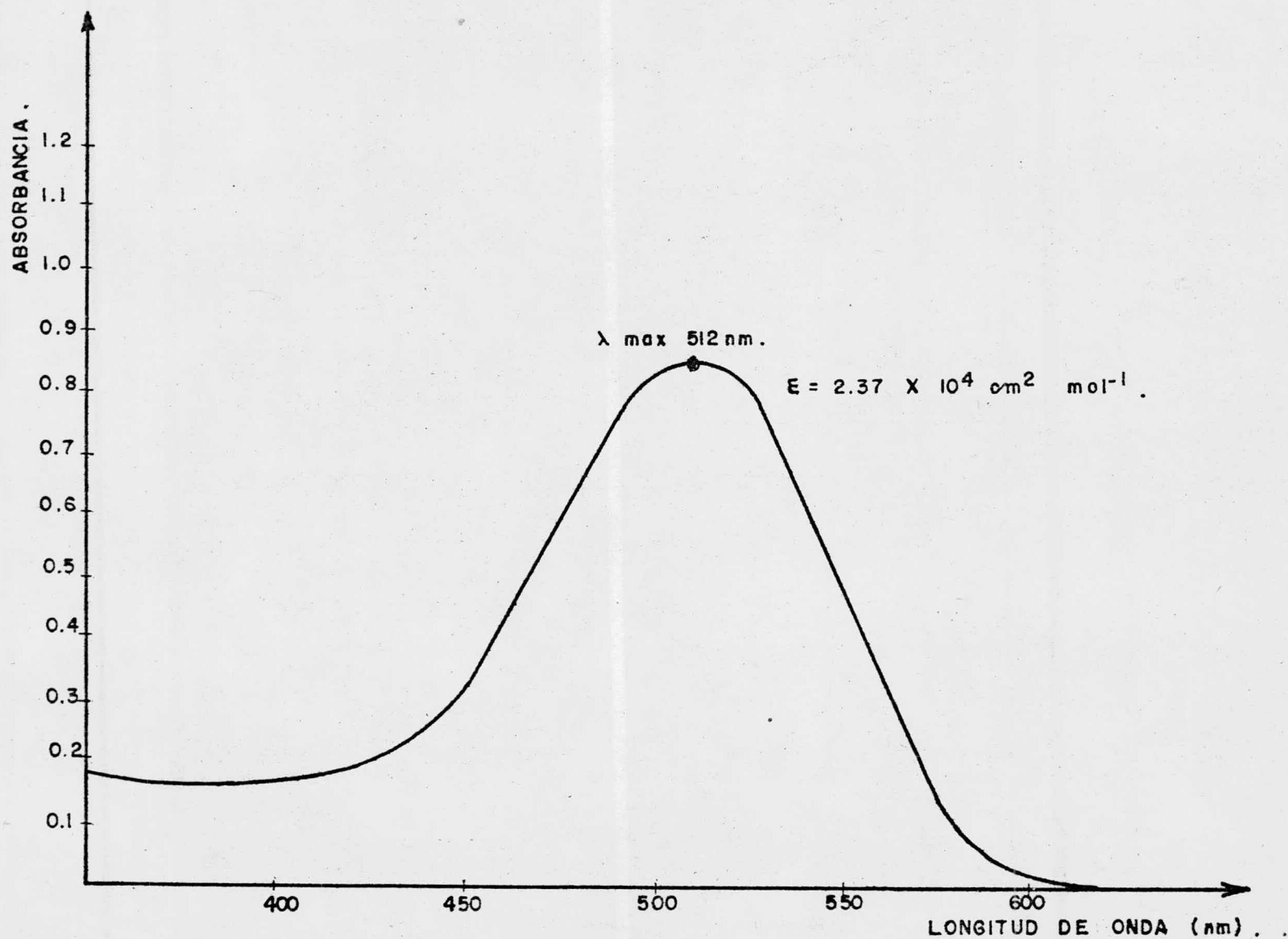


FIGURA No. 3 .

VERIFICACION DE LA LEY DE LAMBERT-BEER .

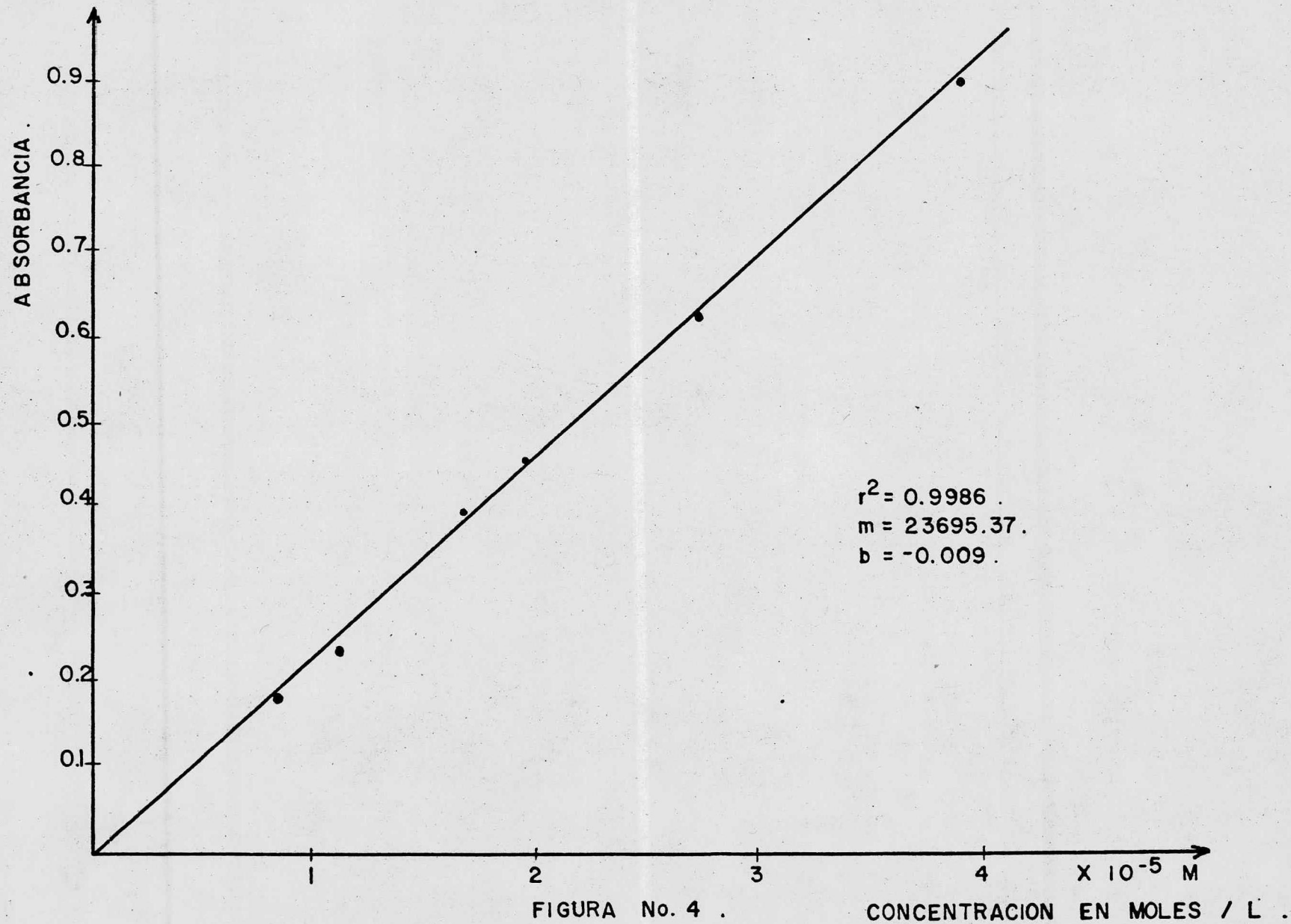


FIGURA No. 4 .

En un mortero se pulverizó y homogeneizó la gelatina, de la cual se pesaron con exactitud, aproximadamente 3 g, que posteriormente se pasaron a un vaso de precipitados; a continuación se adicionó una disolución metanólica saturada con acetato de amonio, recientemente preparada; la mezcla se agitó y se dejó reposar. La separación del líquido y el sólido se efectuó por decantación, repitiéndose la operación varias veces.

Una vez extraído todo el colorante, la solución colorida se filtró a vacío empleando un embudo de vidrio sinterizado, el cual se enjuagó con varias porciones de la disolución metanólica y se evaporó a baño maría hasta casi sequedad. Los extractos coloridos obtenidos, se separaron por cromatografía preparativa en placa fina, empleando como soporte, placas de celulosa de 20 X 10 cm, y como eluyente una mezcla de propanol-acetato de etilo-agua (15:5:30).

2,3,4, DETERMINACION DEL COLORANTE EXTRAIDO DE LAS GELATINAS.

Una vez desarrollado el cromatograma en la forma antes indicada, se observó la separación de varios colorantes; se raspó la zona de la cromatoplaça en la cual se encontraba el amaranto (según su valor de R_f) y este se extrajo de la celulosa con agua destilada; se filtró a vacío a través de un embudo de vidrio sinterizado y se pasó a un matraz volumétrico, completándose el volumen con agua destilada hasta el aforo, (generalmente 10 ml) y efectuando diluciones cuando ésto fue necesario.

Se midió la absorbancia de la disolución resultante, frente a un blanco agua, efectuándose la lectura en el máximo de 512 nm.

2,3,5, DISCUSION DE RESULTADOS.

Los resultados obtenidos al efectuar las determinaciones en la forma indicada en el apartado 2,3,4, se encuentran resu

midos en la tabla No. 1 en la cual se indica, también el porcentaje en peso de amaranto contenido en la gelatina, el cual se calculó a partir de los datos representados en la tabla No. 1.

Al comparar los resultados anteriores puede observarse que todos los valores se encuentran dentro de los límites permitidos por la FAO.

En efecto, si se considera que el peso promedio de un paquete de gelatina es de 85 g, y si asumimos que una persona (con un peso aproximado de 50 kg) ingiriese, por ejemplo, el contenido completo de un paquete de gelatina Royal de cereza cuyo contenido fue el mas alto, esta persona estaría tomando una dosis de 0.173 mg/Kg de peso, valor inferior al límite de la dosis permitida.

No obstante, no debe olvidarse la posibilidad que las propiedades cancerígenas no sean debidas al amaranto en sí, sino a sus impurezas, cuyo límite no está reglamentado.

TABLA No. 1

PRODUCTO	SABOR	PESO (g)	MUESTRA	VOLUMEN QUE CONTIENE MUESTRA TOTAL (ml) *	ABSORBANCIA	CONTENIDO de AMARANTO (% PESO)
G. JELLO	CEREZA	3.77084		200	0.59	0.007982
	FRAMBUESA	5.51426		50	0.65	0.001503
	UVA	7.17050		100	0.45	0.001601
G. PRONTO	CEREZA	3.20209		200	0.55	0.00870
	FRAMBUESA	6.89739		50	0.55	0.01007
	FRESA	6.10262		333.3	0.65	0.00091
G. ROYAL	CEREZA	2.86593		200	0.57	0.01019
	FRAMBUESA	5.82422		50	0.61	0.00807
	FRESA	7.88020		10	0.46	0.00149
	UVA	6.26904		100	0.63	0.00244
	ZARZAMORA	3.01791		200	0.59	0.00997

* En estos casos fué necesario tomar alicuotas y hacer diluciones.

CONCLUSIONES

1.- La pureza del amaranto de fabricación nacional, usado comercialmente, es inferior a la de un producto de importación, similar.

2.- La valoración potenciométrica de amaranto, en medio acuoso, (previa transformación a su forma ácida mediante una resina intercambiadora de cationes y empleando una base fuerte como reactivo valorante), puede ser utilizada para la determinación del contenido máximo de colorante.

3.- El amaranto puede ser extruido de las gelatinas utilizando una disolución metanólica, saturada de acetato de amonio.

4.- El amaranto puede ser separado de los diversos productos de extracción por medio de cromatografía en placa fina, utilizando como eluyente una mezcla de propanol-acetato de etilo-agua, en proporción 15:5:30.

5.- La determinación cuantitativa del amaranto puede llevarse a cabo, espectrofotométricamente, utilizando como longitud de onda de medida la de 512 nm.

6.- En las gelatinas estudiadas, el contenido de amaranto es inferior a los límites tolerados por la FAO y, por tanto, estos productos son aparentemente inócuos.

7.- Se sugiere efectuar un estudio farmacológico del colorante fabricado en el país para poder confirmar si las impurezas que contiene son también inócuas.

BIBLIOGRAFIA

1. J.W. Cook, C.L. Hewett, E.L. Kennaway, and N.M. Kennaway. American Journal of Cancer, 40 62 - 77, (1940).
2. W.A. Mannell, H.C. Grice, F.C. Lu and M.G. Allmark Journal of pharmacy and pharmacology. 10, 625 - 634, (1958).
3. A.I. Shtenberg, E.V. Gravrilenko. Vopros y Pitaniya 29, 66 - 73 (1970).
4. T.F.X. Collins and J. McLaughlin. Food Cosmet Toxicol. 10, 619 - 624 (1972).
5. Arthur A. Nelson and E. Conway Hagan, Am. Soc. For Experimental Patology, 12, 397 - 398 (1953).
6. M.L. Keplinger, P.L. Wright, J.B. Plank and J.C. Calandra. Toxicology and applied pharmacology, 28 (2), 209 - 215, (1974).
7. Larsson K. Sune. Teratol. Krolinska 4 (1), 75 - 82, (1975).
8. Hirano, Keiko, Kuriyama, Hisae, Yoshida Tsutomu Sohoku Junior Coll, 45 (5), 464 - 469, (1974).
9. Ohmori Takako, Kuriyama Hisae, Nakaya Keiko Yoshido Tsutomu. Junior Coll, 48 (8), 161, - 166, (1974).
10. Jack L. Radomski Annual Review of Pharmacology, 14, 127 - 137, (1974).
11. Gales, V. Preda N. Popa, L. Sendrea, D. Simu G. Eur. J. Toxicol, 5, 167 - 173, (1972).
12. Bajguseva, M.M. Voprosy Pitaniya, 27, 46 - 50, (1968).
13. A.J. Ryan and S.E. Wright, Journal of pharmacy and pharmacology, 13, 492 - 495, (1961).
14. J.L. Radomski and T.J. Mellinger of pharmacology and experimental therapeutics, 136, 259 - 266, (1962).
15. Gangolli, S.D. Food Cosmet, Toxicol, 7, 679, (1969).
16. Dosdova, I.G. Putilova I.N.; Golubeva, L.V. Zaved. Pishch Teknol, 4 121 - 22, (1976).

17. Barthe, M.L. Hédin G. Chimie Analytique
1) Méthodos Electro chimiques.
18. Charlot G. Colorimetric determination of elements Principles and Methods. pag. 5 - 8.
Elsevier Publishing Company (1964).
19. Christian Gary D. Analytical Chemistry, 2a Ed.
pags.136 - 137, 143, 148, John Wiley and Sons,
(1977).
20. DickJ.G. Analytical Chemistry, pags. 585 - 588
Mc Graw - Hill, London (1973).
21. Dilt R.V., Analytical Chemistry D. Van Nostrand
Company.
22. IARC Monographs on the Evaluation of Carciogenic Risk of Chemicals to man, Some aromatic Azo compounds., Vol. 8, pags. 41 - 48, International agency for Research on cancer, Lyon, (1975).
23. Silverstein R.M., Bassler G.C., Spectrometric Identification of Organic Compounds. 2a. Ed.
John Wiley and Sons.