



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

23  
2 Gen

**DETERMINACION DE FOSFORO (P)  
Y CALCIO (Ca) EN LECHE EN POLVO**



EXAMEN DE PROFESIONALES  
Y DE POSGRADO

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**QUIMICO**  
PRESENTA  
**ARTURO GUTIERREZ ROHAN**

México, D. F.

1985



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 está 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.

## I N D I C E

	Pág.
I. INTRODUCCION.....	1
II. GENERALIDADES.....	3
A) Leche .....	3
B) Leche en Polvo .....	10
C) Análisis de la Leche.....	14
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	30
IV. RESULTADOS Y CALCULOS.....	38
V. CONCLUSIONES.....	45
VI. BIBLIOGRAFIA .....	46

## I N T R O D U C C I O N

El objeto de este trabajo es proporcionar un método de laboratorio para la determinación del fósforo y del calcio contenidos en la leche en polvo.

Siendo la leche durante cierto período el alimento exclusivo de los mamíferos, necesario es que contenga todos los principales nutrientes para la vida; por consiguiente, además de agua, las sustancias minerales deben encontrarse en todas las leches, en una proporción que varía de 3 a 10 gr. por litro. Se trata, por lo tanto, de una fracción pequeña en relación con los lípidos, glúcidos y prótidos.

La importancia de las sales minerales, sobre todo de aquellas que determinan la estructura de la leche, y que están formadas por los ácidos fosfórico y cítrico por el calcio, magnesio, el sodio y el potasio, que constituyen la originalidad de la leche por su naturaleza o por su concentración. Es preciso insistir en el hecho de que las materias minerales no se encuentran exclusivamente bajo formas de sales solubles. Una parte importante se encuentra en fase coloidal.

Fósforo y calcio. Estos dos elementos forman lo esencial de la parte mineral-coloidal, que es una de las características estructurales de la leche. El magnesio contribuye en pequeña proporción. Asociados a estos elementos, se encuentra el ácido cítrico. Dos tercios del fósforo y del calcio se encuentran en solución y forman parte, principalmente, del fosfocaseinato de calcio.

En la leche se encuentran también, pequeñas cantidades de combinaciones orgánico-fosfatadas, como son las lecitinas, ésteres hexosa fosfóricas, nucleótidos y un complejo vitamínico con riboflavina.

Es importante notar que la leche contiene, en relación con la sangre total, 20 veces más calcio y cuatro veces más fósforo. El hecho de que

una parte importante de estos elementos se encuentre bajo forma coloidal, con poca influencia sobre la presión osmótica, explica esta sobrecarga. La leche contiene más calcio que el agua de cal. De hecho, es una de las fuentes de calcio más importante de los humanos.

El contenido global de las materias minerales de la leche se determinan habitualmente, en las cenizas. Mediante este procedimiento, en la leche de vaca se pueden encontrar de 7 a 8 gr. de cenizas por litro. Estas cenizas no representan el total de las sales de la leche en su estado natural, la proporción de sales es un poco más elevada, de 8 a 10 gr. por litro. Mientras que la leche tiene una reacción ligeramente ácida, las cenizas son netamente alcalinas, se ha producido por lo tanto, una modificación importante en el equilibrio ácido-base en el curso de la incineración.

Estas modificaciones son casi constantes. Además se producen pérdidas de los elementos mas volátiles, que dependen estrechamente de la temperatura alcanzada en el horno. El yodo desaparece, los cloruros y el fósforo permanecen fijos hasta 550° C. Por encima de esta temperatura, las pérdidas son sensibles. Durante la incineración, los citratos se destruyen completamente, se forman también fosfatos y sulfatos, con el fósforo y el azufre incluidos en las moléculas protéicas y que anteriormente no se encontraban en estado salino.

El determinar el contenido de calcio y fósforo es importante, para establecer el grado de adulteración de la leche.

## GENERALIDADES

La leche es un líquido emulsivo, opaco, de color blanco o blanco amarillento, dos veces más viscosa que el agua, de sabor ligeramente azucarado, de olor acentado, segregado, por determinadas glándulas de las hembras de los mamíferos.

De las diversas clases de leche, la que ha sido objeto de más investigaciones, es la de vaca, por usarse en gran abundancia como alimento en la primera edad de la vida.

La leche fresca de vaca, llamada leche completa, es un líquido opaco homogéneo de color blanco amarillento con ligero matiz azulado, en capas muy delgadas, de sabor dulce y de olor característico.

Sus principales caracteres físicos y fisicoquímicos, de determinación inmediata, son los siguientes:

Densidad al 15° C.....	1.030 a 1.034
Color específico .....	0.93
Punto de congelación.....	-0.55° C.
pH .....	6.5 a 6.6
Acidez expresada en grados Darnic, es decir en decigramos de ácido láctico por litro.....	16 a 18
Índice de refracción .....	1.35
La leche tiene una débil tensión superficial.	

La leche constituye una estructura muy compleja, de modo esquemático, se puede considerar la leche como una emulsión de materias grasas en una solución acuosa que contiene numerosos elementos, unos en disolución y otros en estado coloidal.

En la composición de la leche, desde el punto de vista cuantitativo, el agua es el elemento más importante. Representa, aproximadamente, los 9/10

de la leche, los otros elementos constituyen el extracto seco total que alcanza habitualmente de 125 a 130 gr. por litro. El extracto seco, magro expresa el contenido de la leche en materia seca, libre de grasa. Esta cifra es mucho más constante que la del extracto seco total y casi siempre está muy próxima a 90 gr. por litro. Algunos componentes de la leche están presentes en cantidades sensibles y pueden determinarse con mayor o menor facilidad. Entre éstos pueden citarse las grasas, la lactosa, las sustancias nitrogenadas y las sales minerales. Otros compuestos, como las enzimas, los pigmentos y las vitaminas por el contrario, se encuentran sólo en cantidades vestigiales y su determinación es más difícil.

El carácter esencial de la composición de la leche es la armonía o equilibrio en que se encuentran sus componentes, lo que la hace un alimento de valor inestimable, en particular para los niños. En efecto, la leche contiene la mayoría de los elementos necesarios para la edificación de los tejidos animales.

Composición química media de un litro de leche

I.- Constituyentes plásticos o energéticos.

Agua .....	900 - 910 gr.
Grasa .....	35 - 45 gr.
Extracto seco total .....	125 - 130 gr.
Extracto seco magro .....	90 - 95 gr.
Lactosa .....	47 - 52 gr.
Sustancias nitrogenadas .....	33 - 36 gr.
Sales .....	9 - 9.5 gr.

II.- Biocatalizadores: (no fácilmente determinables o en porciones variables). Pigmentos, enzimas, vitaminas.

III.- Gases disueltos:

Carbónico, oxígeno y nitrógeno (4.5% del volumen de leche a la salida de la mama).

Grasas.

La composición media de los lípidos contenidos en un litro de leche es la siguiente:

Lípidos simples (glicéridos y estéridos) .....	35 - 45 gr.
Lípidos complejos (licitinas y cefalinas) .....	0.3 -0.5 gr.

Substancias nitrogenadas.

Las substancias nitrogenadas contenidas en un litro se descomponen de la manera siguiente:

Prótidos 32 a 35 gr.	}	prótidos	}	caseína bruta.....	26 - 29 gr.
				Lactoglobulina.....	2.5 - 4 gr.
				lactoalbúmina.....	0.8 -1.5 gr.
				Inmunoglobulina.....	0.5 -0.8 gr.
				proteosa-pentosa.....	0.8 -1.5 gr.
				proteínas menores (lacteinas, lipo- proteínas).	
				aminoácidos, oligopéptidos	

Substancias nitrogenadas no protéicas (urea, ácido úrico, crotina).	}	nitrógeno no protéico	}	0.8 -1.2 gr.

Lactosa

El contenido en lactosa de la leche se eleva, como cifra media a 50 gr. por litro.

Sales.

Es preciso distinguir las substancias salinas o sales (9-9.5 gr. por litro) de las cenizas o materias minerales (7-7.5 gr. por litro). En efecto,

en el curso de la incineración de la leche se destruyen o modifican un cierto número de sales. Así por ejemplo, los cloruros se volatilizan, el fósforo - de la caseína se encuentra después, en forma de sulfatos, los citratos desaparecen.

Las sales contenidas en un litro de leche de vaca son:

Cloruros	$\left\{ \begin{array}{l} \text{sodio} \\ \text{potasio} \end{array} \right\}$	1.09	2.01
		0.92	
Fosfatos	$\left\{ \begin{array}{l} \text{monopotásico} \\ \text{dipotásico} \end{array} \right\}$	1	3.32
		1.10	
	$\left\{ \begin{array}{l} \text{trimagnésico} \\ \text{dicálcico} \end{array} \right\}$	0.16	
		1.06	
Citratos	$\left\{ \begin{array}{l} \text{tripotásico} \\ \text{trimagnésico} \\ \text{tricálcico} \end{array} \right\}$	0.67	3.21
		2.76	
		1.78	
Bicarbonato de sodio		0.25	
Sulfato de sodio		0.18	
Calcio combinado con la caseína		0.61	
Total:		9.58	gr.

A esta lista deben añadirse los trazos de metales pesados:

Hierro	1 - 1.5 mg.
Cobre	0.2 - 0.5 mg.
Cinc	2.3 mg.
Manganeso	0.05 mg.

Biocatalizadores

Vitaminas: A, D, E, B, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub>, PP, ácido pantotéico, ácido fólico, H y C.

Enzimas (Hidrolasa)

Lipasas; galactasa o proteasa, amilasa.

Enzimas (desmalasas).

Scharinger o aldehído reductasa, reductasa microbiona, lactoperoxidasa, catalasa.

Distribución del fósforo y del calcio en la leche de vaca.

I Fósforo ( P total 1 % de leche ).

ORGANICO		INORGANICO (MINERAL)	
Esteres, hexosa fosfóricos fosfolipidos complejo riboflavina 1.7% (T) (L) .017 %	fosfoserina de la caseína  19% (T) (L) .19 %	fosfato tricálcico del fosfocaseinato una parte libre  30% (T) (L) .30 %	fosfatos en solución  (Ca, H, K, Mg.)  34% (T) (L) .34%
soluble	insoluble  ( coloidal )	insoluble  ( coloidal )	soluble  Calcio ultrafiltrado 33 % ( T )
Ca ligado a la caseína  21 % (T) (L) .27%	fosfato tricálcico del fosfocaseinato  46 % (T) (L) .60 %	sales de Ca no ionizadas  (citratos) (fosfatos) 21.5 % (T) 11.5% (T) (L) .28% (L) .15%	Ca ionizado
Orgánico	Inorgánico (mineral)'		

II Calcio ( Ca total 1.3% de leche)

(T) % de fósforo o de calcio total.

(L) % de la leche.

El cuadro siguiente nos da la composición mineral media de diferentes leches, y los valores extremos para la leche de vaca.

COMPOSICION DE DIVERSAS LECHES EN MINERALES Y ACIDO CITRICO.

	Valor medio % en varios tipos de leche					En la leche de vaca		Sangre (Plasma bovino)
	Vaca	Cabra	Oveja	Cerdo	Humana	Valores extremos ( % )	Molaridad (media)	
Potasio (K <sub>2</sub> O)	1.6 (1.8)	1.6 (2.0)	1.5 (1.8)	1.0 (1.2)	0.5 (0.7)	1.2 (1.5)- 1.8 (2.2)	0.04	0.2
Sodio (Na <sub>2</sub> O)	0.5 (0.7)	0.4 (0.54)	0.4 (0.54)	0.35 (0.47)	0.16 (0.2)	.035 (.47)- 1.1 (1.5)	0.02	3.3
Calcio (Ca O)	1.3 (1.8)	1.3 (1.8)	2.3 (3.2)	2.1 3.0	0.2-0.4 (0.42)	0.9 (1.3)- 1.6 (2.2)	0.032	0.1
Magnesio (Mg O)	0.14 (0.2)	0.15 (0.25)	--	0.20 (0.32)	0.05 (0.08)		0.005	0.25
Fósforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	1.0 (2.3)	1.0 (2.3)	1.6 (3.7)	1.5 (3.6)	0.15 (0.4)	0.75 (1.7)- 1.25 (2.9)	0.032	0.05
Cloro (Na Cl)	1.1 (1.8)	1.5 (2.5)	0.7 (1.15)	--	0.5 (0.8)	0.7 (1.1)- 1.65 (2.7)	0.03	3.5
Azufre	0.3	0.2			0.15			
CO <sub>2</sub> de los car- bonatos	0.2							
Acido Cítrico	1.8	1.5			0.8	1.2 - 2.2	0.01	0.04

Del cuadro anterior vemos, que. Las leches de vaca y cabra tienen una composición mineral parecida. El potasio es el elemento dominante; más que el calcio y el fósforo. Por el contrario, estos dos últimos elementos son más abundantes en las leches de oveja y cerda, las cuales presentan similitudes de composición. La leche humana está poco mineralizada en relación con la de vaca.

La alimentación de la hembra durante la lactancia influye poco sobre el contenido en minerales de la leche, incluso cuando se registra una carencia muy frecuente por cierto de fósforo y calcio. La falta de estos elementos, -

sobre la producción que se reduce, pero no afecta su composición. En estos casos parece existir una actividad especial, ya que es poco probable - que se trate de una simple filtración de los minerales de la leche.

El cuadro nos muestra la composición mineral de la leche de vaca es muy diferente a la de la sangre, con la cual se encuentra en equilibrio en la mama.

En el curso de la lactación, el contenido en potasio desciende regularmente hasta el final de la lactación: el contenido de la leche en minerales varía excepto para el magnesio, las variaciones de P y Ca son menos acusadas.

El contenido en Na se eleva a final de la lactación: es un hecho - bien conocido que los contenidos en Na y K evolucionan en sentido inverso.

La composición mineral del calostro es diferente de la correspondiente a la leche, pero estas diferencias no son del mismo orden en todas las especies. El calostro por ejemplo, contiene más P y Ca que la leche.

## LECHES EN POLVO

Las leches en polvo se fabrican por dos técnicas completamente diferentes a saber:

El método del tambor (Sistema de película).

El método de pulverización (Atomización).

El método del tambor.

En este primer método, la leche es previamente concentrada por condensación en el vacío y se extiende sobre una capa delgada en una superficie hipercalentada de un cilindro metálico. De esta manera es desecada en pocos segundos; posteriormente se raspa la superficie y se pulveriza.

La leche en polvo preparada por este procedimiento es mucho más digerible que la leche fresca, pero posee un sabor peculiar que se opone a su utilización doméstica; además, al rehacerla mediante adición de agua, la grasa se emulsiona mal, reuniéndose en la superficie formando gruesas gotas.

El método de pulverización:

Las leches en polvo preparadas siguiendo el método de pulverización también se concentran previamente y luego se nebulizan en una corriente de aire caliente, desecándose de modo instantáneo y cayendo como una nieve fina al suelo de la cámara de desecación. A base del polvo resultante se reconstruye muy fácilmente con agua formando un líquido homogéneo, mucho más parecido a la leche fresca que a la leche desecada por el método del tambor. Quizá sea algo más digerible que la leche fresca y posee la ventaja de su sabor casi igual a ésta, si se usa después de su preparación, en tanto que su conservación en almacén le da un olor y gusto a queso.

Ambas variedades de leche en polvo, una vez reconstruídas con la misma cantidad de agua eliminada durante el proceso de desecación tienen una

composición centesimal similar a la de la leche de que fueron preparadas.

Características de la leche en polvo obtenida con el sistema de la película:

Esta leche tiene un color amarillo patente, emite un olor agradable cuando es reciente, no es blanda al tacto, su examen microscópico descubre escamas poligonales irregulares y las leches en polvo finalmente molidas - muestran masas irregulares con aspecto cristalino. Nunca se disuelven por completo, mediando su solubilidad entre el 70 y el 80%. La leche en polvo regeneradas es menos viscosa que la leche natural, tiene gotitas oleosas en su superficie y gusto a hervido más o menos manifiesto.

Por lo general su contenido microbiano es escaso; siempre carece de fermentos lácticos y contiene alguna que otra espora superviviente. A consecuencia de las contaminaciones sucesivas (empaquetado, embalage, almacenamiento) se puede descubrir la presencia de bacterias, levaduras, mohos. En la leche en polvo obtenida por el sistema de la película sobre todo mediante cilindros o tambores giratorios no se destruyen los bacilos de Koch. Estos bacilos, de ordinario no coagulan la leche esterilizada y algunas veces no imprimen modificación alguna a la leche ni tras varios días de permanecer en la estufa de cultivo. Otras veces desarrollan un coágulo por efecto de las bacterias esporógenas, pero tal coágulo no se acompaña de gran acidificación y más adelante, siempre se asocian a una digestión más o menos rápida.

Característica de las leches obtenidas por el sistema de pulverización Krouse:

Estas leches tienen color blanco amarillento, blandas al tacto, con olor tenue incluso estando recién preparadas, muy inestables y su examen microscópico descubre glóbulos redondos de diámetro dispar entre 10 y 100 micras (por término medio 50).

Se disuelven casi por completo entre 90 y el 100% por lo cual a estas leches se les ha dado la clasificación de solubles.

Esta leche regenerada tiene mayor viscosidad que la obtenida por el sistema de los tambores giratorios, pero un poco menos que la leche natural, y su superficie tiene unas gotas oleosas muy pequeñas.

El contenido microbiano de la leche en polvo obtenida por pulverización depende en especial de la temperatura real alcanzada durante el proceso. Esta temperatura a menudo es poco elevada, detalle que en general, es factor favorable para su solubilidad.

La composición de la leche en polvo difiere, dentro de ciertos límites, según las variaciones de la composición de la leche original y sobre todo según el método de su fabricación.

La leche en polvo nunca es del todo anhidra, soliendo contener no más del 5 al 6% (como promedio el 3% de agua).

El producto fabricado por el método de la película contiene del 3.5 al 8% de humedad, mientras que el obtenido por el procedimiento de la pulverización media entre el 1 y el 3.5%

La nata en polvo contiene menos humedad (del .08 al .35%).

COMPOSICION MEDIA DE LA LECHE EN POLVO SEGUN SAVINI.

Producto	Agua %	Grasa %	Lactosa %	Substancias protéicas %	Cenizas %
Leche en polvo					
Grasa	1 a 6.4	25 a 30.7	31 a 42	23 a 32	4.5 a 6.5
Semigrasa	2.1 a 8.3	13 a 21.9	34 a 48	25 a 38	6.9 a 8.2
Magra	1 a 7.4	.7 a 2.5	45 a 52	33 a 57	7 a 8
Nata en polvo	.5 a .8	5 a 7.1	14 a 25	11 a 19	2.4 a 4.1

Como estos polvos son higroscópicos, su contenido acuoso aumenta - con su almacenamiento, y su humedad elevada mayor al 5% contribuye a darles olor y sabor anormales, reduciendo su solubilidad.

Por lo común, para regenerar un litro de leche de concentración - normal procede disolver 135 gr. de leche en polvo grasa en 900 gr. de agua; 120 gr. de leche en polvo semigrasa en 915 gr. de agua; 115 gr. de leche en polvo desnatada a dos tercios en 920 gr. de agua ó 105 gr. de leche en polvo magra en 930 gr. de agua para obtener, respectivamente, leche pura, semi desnatada, desnatada a dos tercios o desnatada por completo.

## ANÁLISIS DE LA LECHE EN POLVO

Para el análisis de la leche en polvo, se ha de partir de la leche en polvo y no de la regenerada. Teniendo importancia desde el punto de vista higiénico, la determinación de la solubilidad, de la grasa y de las sustancias protéicas, así como la investigación de las sustancias agregadas para facilitar la solución de las proteínas y la eventual adición de antisépticos.

Para indagar el estado de conservación tiene trascendencia la determinación de la humedad, el ensayo organoléptico de la leche en polvo o regenerada, la investigación de la presencia de metales pesados.

### Ensayo Organoléptico:

El ensayo organoléptico o sea el exámen del olor, color y del aspecto, comparados con los propios de la leche cruda. Para tal ensayo se pesan 50 gr. de la leche en polvo y se disuelven en 450 ml. de agua, se calienta a 20° C. Esta solución debe corresponder a una leche cruda con un residuo del 12%. En ella, además, se determinan la densidad y su contenido en grasa.

### Determinación de humedad:

En un crisol, previamente pesado, se ponen 2 gr. de leche en polvo y se secan a la estufa hasta peso constante para lo cual suelen necesitarse de 2 a 3 hr. La diferencia de peso multiplicada por 50, expresa la proporción de agua en la leche en polvo ensayada.

### Determinación de cenizas en la leche en polvo:

El crisol con la leche en polvo utilizado para la determinación de humedad se carboniza cuidadosamente en la llama del mechero de Bunsen, con -

lo cual se inflaman los vapores malolientes. Se completa la calcinación en la mufla a 500° C. durante 3 hr., se deja las cenizas en el desecador y se pesan, la diferencia entre el peso representa el valor de las cenizas de los 2 gr. de leche en polvo, multiplicada por 50 expresa la cantidad de cenizas de dicho producto.

#### Calcinación por vía húmeda:

La calcinación por vía húmeda, proporciona condiciones favorables para determinar la presencia de los diversos elementos minerales. Incluso - permite la determinación del fósforo. Con la calcinación por vía seca, el - pentóxido de fósforo se evapora en forma de nubes blancas.

#### Reactivos necesarios:

- Acido nítrico concentrado.
- Acido clorhídrico concentrado
- Agua oxigenada al 30% (exenta de calcio y magnesio).

#### Procedimiento:

Se pesan 27 gr. de leche en polvo, y 130 ml. de ácido nítrico. Se introducen en un matraz Kjeldahl de 500 ml. de capacidad y se le agregan perlas de cristal duro. Se calienta con precaución en la campana sobre la llama del mechero hasta que hiervan y se reduzca a unos 70 ml. Se solidifican las grasas por el frío (bajo 15° C) y se filtra por un crisol con filtro, de cristal, recogiendo el filtrado en otro matraz Kjeldahl. Se enjuaga con agua destilada fría, que se incorpora al filtrado. Se agregan 1 ó 2 perlas de - cristal para evitar proyecciones durante la ebullición y se evapora hasta que empieza a desecarse.

Cuidadosamente se coloca el matraz sobre una pequeña llama. En cuanto se formen manchas pardas se agrega agua oxigenada para evitar la carbonización.

Se apaga el mechero hasta que desaparece la espuma abundante. Se prosigue el desecado y al formarse otra vez manchas pardas, se vuelve agregar agua oxigenada, hasta que se haya formado una costra salina blanca. Una vez enfriado se trata dos veces el residuo con 8 ml. cada vez de ácido clorhídrico y se deseca de nuevo para extraer los últimos vestigios de nitrato.

Las sales blancas raramente se disuelven en 8 ml. de ácido clorhídrico y agua, se filtran, recogiendo el filtrado en un matraz aforado de 100 ml. y después de enfriado, se completa su volumen hasta la marca.

Esta solución es la utilizada para determinar cada uno de los elementos minerales. Cada ml. de la misma equivale a .27 gr. (2 ml.) de la leche ensayada.

Por otra parte esta misma solución puede obtenerse de los otros productos lácteos (leche normal, suero, leche desalbuminizada, queso, mantequilla, grasa, etc.).

Para obtener tales soluciones se precisa, según Kaegi:

- Para 200 ml. de leche normal: 130 ml. de ácido nítrico y 45 a 55 ml. de agua oxigenada.
- Para 200 ml. de suero de leche: 130 ml. de ácido nítrico y 15 a 25 ml. de agua oxigenada.
- Para 10 gr. de queso: 40 ml. de ácido nítrico y 40 a 45 ml. de agua oxigenada.
- Para 10 gr. de grasa: 100 ml. de ácido nítrico y 30 a 50 ml. de agua oxigenada.

Para la mantequilla: Son necesarios 10 gr. de la misma y 50 ml. de ácido nítrico, se hierve y se separa la grasa por filtración, la grasa así separada se vuelve a tratar con 50 ml. de ácido nítrico y se filtra; los dos filtrados se reúnen para continuar el exámen.

- Determinación de alcalinos.
- Preparación de los cloruros alcalinos puros.
- Reactivos necesarios. Solución de cloruro bórico al 10%.
- Hidróxido de amonio concentrado exento de alcalinos.
- Hidróxido de amonio al 2.5% exento de alcalinos.

Solución alcohólica de carbonato de amonio. (en dos litros de agua caliente se vierten 500 ml. de hidróxido de amonio y después se disuelven 625 gr. de carbonato de amonio, obtenida esta disolución, se agregan 2.5 litros de alcohol de 90° y se deja enfriar).

Procedimiento:

Se toman 25 ml. de la solución de las materias minerales, equivalentes a 50 ml. de la leche que se ensaya, más 5 ml. de solución de cloruro bórico, se calienta a baño maría. Estando todavía caliente se alcaliniza con hidróxido de amonio concentrado.

Con hidróxido de amonio al 2.5% se pasa a un matraz aforado de 100 ml. y cuando esté frío, se completa su volumen hasta la marca. La espuma viscosa producida se desvanece con vapores de éter antes de enrasar con la línea de la marca. Se homogeniza bien el contenido del matraz aforado y se filtra.

Se toman 60 ml. del filtrado, se evaporan hasta casi la sequedad, las sales precipitadas se revuelven con una solución fría de carbonato amónico. Con la misma solución se arrastra el precipitado a un matraz aforado de 100 ml. y se sigue añadiendo hasta la marca. Se agita vigorosamente varias veces y se deja en reposo toda la noche.

Se filtra. Se recogen 60 ml. del filtrado en un vaso de precipitado y se deseca con lentitud en un baño maría moderadamente caliente, evitando las pérdidas por proyecciones. Se evaporan las sales amoniacales, y la pequeña cantidad de substancia orgánica se elimina por cremación, sin llegar a incinerarla.

Residuo.- Los cloruros alcalinos se pasan con agua a un matraz - aforado de 100 ml. El escaso precipitado ( $Mg\ CO_3$ ) se retira filtrando.

Con esta solución se hace la determinación del sodio y del potasio, partiendo de 20 ml. para determinar el sodio y de 50 ml. para determinar el potasio.

#### Determinación del sodio:

##### Reactivos necesarios:

Reactivo A: Acetato de uranilo 80 gr. ácido acético al 30% en volumen 46 ml. y 500 ml. de agua.

Reactivo B: Acetato de zinc 240 gr.; ácido acético al 30% en volumen de 6.23 ml. y 500 ml. de agua.

Los reactivos A y B se disuelven en caliente y se mezclan. Transcurridas 24 horas se filtra la solución. Este reactivo se conserva indefinidamente, alcohol del 96° saturado con  $(UO_2)_3Zn\ Na\ (C\ H_3\ COO)_9\ 6\ H_2O$ . Esta solución resulta de las determinaciones de sodio.

Técnica: En un vaso de precipitado se ponen 20 ml. de la solución de cloruros alcalinos, evaporando hasta sequedad. Se añaden 15 ml. del reactivo para sodio y se revuelve durante 10 minutos. Al cabo, de cuando al menos una hora, se filtra, al vacío usando un crisol con placa de vidrio. Antes de emplear este crisol se ha de limpiar con éter y alcohol y después se seca en el desecador con cloruro de calcio y se pesa.

El precipitado se lava cuatro veces con 2 ml. del reactivo para el sodio; tres veces con 2 ml. de alcohol y dos veces con 5 ml. de éter. Se deja reposar 30 minutos al aire, después se mantiene otros 30 minutos en el desecador con cloruro de calcio y se pesa.

Observaciones: El precipitado de  $(\text{UO}_2)_3\text{Zn Na} (\text{C}_2\text{H}_3\text{CO}_2)_9 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  - contiene el 1.495 % de sodio por lo cual su factor para convertirlo en sodio, es 0.01495. La pesada mínima del precipitado debe ser de 0.2 gr. y - la máxima de 0.6 gr.

#### Determinación de potasio:

Reactivos necesarios: Acido perclórico al 20%, alcohol de 96° - con el 0.2% de ácido perclórico, alcohol del 96.

Técnica: En un vaso de precipitado se ponen 50 ml. de la solución de cloruros alcalinos, evaporándola hasta reducirla a unos 10 ml. Se agrega gota a gota 5 ml. de ácido perclórico y se sigue evaporando hasta - sequedad.

En cuanto se ha enfriado, se revuelven los cristales en 5 ml. de alcohol conteniendo ácido perclórico. Se deja reposar un poco y se filtra por un crisol con placa de cristal. El precipitado se lava cuatro veces - con 2 ml. de alcohol con ácido perclórico y dos veces con 2 ml. de alcohol del 96.

El crisol filtrante previamente lavado y secado de manera conveniente se seca durante 30 minutos, con el precipitado a 120° - 130° C y una vez enfriado en el desecador, se pesa.

Cálculo: El factor para calcular la cantidad de potasio presente, es de 0.02822 ( $\text{K Cl O}_4$ ). Este precipitado debe pesar, cuando menos, - 0.1 gr.

#### Determinación de alcalinoterreos.

##### Determinación de calcio.

Reactivos necesarios:

- Hidróxido de amonio al 10%.
- Acido acético glacial.
- Solución de oxalato de amonio al 4%.

Acido sulfúrico al 10% aproximadamente en volumen.

Solución décimo normal de permanganato de potasio, con su factor corrector conocido.

Técnica.- Se toman 30 ml. de la solución de productos minerales (equivalen a 60 ml. de la leche ensayada), se diluyen por lo menos, hasta 250 ml. en un vaso de precipitado y se calienta hasta ebullición. Se alcaliniza un poco con hidróxido de amonio y se acidula con unas dos gotas de ácido acético glacial.

La solución hirviente se mezcla con 25 ml. de solución de oxalato de amonio, también hirviente y se mantiene la ebullición, sin dejar de revolver. Durante la noche se deja precipitar el sedimento. El oxalato cálcico precipitado se filtra sobre un filtro, exento de cenizas, se lava con porciones, lo menos posible de agua caliente.

El embudo con su filtro se coloca sobre un matraz Erlenmeyer y se perfora el vértice del filtro. Se lava el filtro con ácido sulfúrico caliente y el líquido se valora con la solución de permanganato de potasio a 75° - 85° C.

Cálculos.- Un ml. exacto de la solución décimo normal de permanganato de potasio equivale a 0.002004 gr. de calcio.

La cantidad gastada de permanganato de potasio para valorar la solución ha de ser cuando menos 20 ml.

El calcio está en la leche en forma de fosfatos bi, tricálcicos y de caseinato cálcico, sobre todo.

Reactivos:

Solución saturada de sulfato de cobre.

Polvo de Zinc.

Solución saturada de acetato sódico.

Solución de oxalato de amonio al 5%.

Agua amoniacal, al 2%.

Acido sulfúrico diluído.

Solución décimo normal de permanganato de potasio.

Técnica.- En un matraz aforado de 100 ml. se ponen 1.35 gr. de leche en polvo, 80 ml. de agua destilada y 3 ml. de la solución saturada de sulfato de cobre. Se completa el volumen con agua destilada, se agita enérgicamente y se filtra a través de polvo de zinc; del filtrado así obtenido, se miden 22 ml. a los cuales se les añaden 2 ml. de la solución saturada de acetato sódico y 5 ml. de la solución de oxalato de amonio.

Se forma un precipitado de oxalato de calcio que se lava con agua amoniacal. El precipitado se disuelve con ácido sulfúrico diluído caliente y el oxalato así disuelto se valora con permanganato de potasio. Como cada ml. de esta solución décimo normal equivale a .02 miligramos de calcio, se calcula con facilidad el calcio valorado en el oxalato, presente en un litro de leche.

Es más fácil determinar el calcio en forma del oxalato en las cenizas obtenidas por calcinación. La siguiente técnica permite determinar, además del calcio, el ácido fosfórico.

Técnica.- La solución de cenizas tratada con ácido nítrico se mezcla con una solución saturada de acetato de amonio hasta que de la reacción del ácido acético y, en frío, se le añade gota a gota, solución de cloruro férrico al 10% hasta que, sedimentando en parte el líquido de la parte alta muestre un patente color amarillo.

Se calienta hasta la ebullición y se filtra. El precipitado de fosfato de hierro, copioso, se arrastra difícilmente con agua. Se disuelve en ácido nítrico diluído, muy caliente, se hierve y se neutraliza con hidróxido de amonio la mayor parte del ácido nítrico, hasta que la reacción sea débilmente ácida. Entonces se añade más solución de acetato de amonio, se vuelve a calentar hasta la ebullición y se filtra.

El precipitado de fierro purificado de este modo, se puede disolver en ácido nítrico, investigándose el ácido fosfórico por el método del molibdeno; los filtrados obtenidos se reúnen, se concentran, pero su reacción al ácido acético debe conservarse. Se calienta hasta que hierva y se le agrega solución saturada de oxalato de amonio. Se sigue calentando otros 15 minutos, se deja sedimentar, se filtra y se lava con abundante agua.

Si no se desea investigar el ácido fosfórico, no se agrega cloruro férrico a la solución acética de las cenizas y se calienta hasta la ebullición. Después se elimina por filtración, la pequeña cantidad de hierro y de alúmina, se lava, y al filtrado se le añade, en caliente, solución de oxalato de amonio.

El oxalato de calcio formado se puede someter a diversas técnicas. Se puede transformar en óxido cálcico calcinando y pesándolo en forma de tal. Esta operación es satisfactoria si se dispone de una cantidad de calcio la suficientemente grande; pero si se ha de proceder con cantidades pequeñas de leche, el óxido cálcico obtenido se transforma, en sulfato tratándolo con precaución, con ácido sulfúrico diluído. El aumento de peso consiguiente mejora bastante la exactitud de este procedimiento. Es apropiada la determinación del ácido oxálico combinado con el calcio por volumetría y de este modo se calcula el contenido en Ca.

Técnica.- Una vez bien lavado el precipitado oxálico del filtro, se disuelve en ácido sulfúrico diluído caliente y después se lava con agua caliente. La solución se calienta a 80° C. y se le añade solución décimo normal de permanganato de potasio hasta que el color rojo, apenas perceptible, sea permanente.

Cada ml. de solución de permanganato de potasio corresponde a .00280 miligramos de óxido de calcio.

Determinación del contenido en calcio de productos lácteos.

Reactivos.

Acido nítrico concentrado.

Hidróxido de amonio concentrado.

Acido clorhídrico al 12.5% (el de 25% con densidad de 1.122, diluído hasta la mitad).

Oxalato de amonio al 4%.

Solución de ácido sulfúrico al 10%.

Solución de permanganato de potasio décimo normal.

Alcohol metílico.

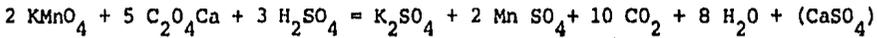
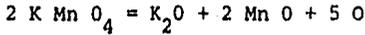
Técnica.- Para los productos lácteos sólidos, se pesan 5 gr. de cuajo ó 2 gr. de leche en polvo o de caseína. Se colocan en un crisol, si el producto que se ensaya es húmedo, se seca en la estufa.

Se calienta sobre una llama pequeña hasta que esté carbonizado. Los gases combustibles se inflaman. Se incinera durante 10 minutos. Una vez enfriado, las cenizas se les añade 3 o 4 gotas de ácido nítrico, se evapora con cuidado y se vuelve a incinerar.

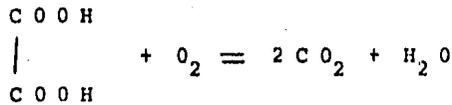
Cuando se ha enfriado el crisol, se monta en un triángulo de porcelana. Se le añade 25 ml. de ácido clorhídrico y se calienta, sin que llegue a hervir. Se deja enfriar en parte, el producto, se vierte en un vaso de precipitado de 500 ml. y se repite el tratamiento con ácido clorhídrico. Luego se lava el crisol con agua destilada, el lavado se incorpora al vaso de precipitado. Se trata con ácido clorhídrico provisto de hidróxido de amonio al 25%, hasta que empiece a formarse un precipitado que se disuelve al agitar. Se añaden 50 ml. de acetato de amonio y 10 ml. de alcohol metílico. Se calienta hasta ebullición y se añaden, gota a gota 50 ml. de la solución de oxalato de amonio, con el cual se produce un precipitado de oxalato de calcio en forma de cristales. Se hierve otros 5 minutos, estando caliente se filtra y el precipitado se lava con agua destilada, muy caliente hasta que ya no dé reacción al cloro.

El precipitado húmedo se pasa a un matraz Erlenmeyer con 20 ml. de la solución de ácido sulfúrico al 10% caliente. Estando todavía caliente se valora con la solución de permanganato de potasio.

Una solución 2 molar de permanganato de potasio, en medio ácido - desprende 5 átomos gramo de oxígeno.



La oxidación de una molécula de ácido oxálico necesita un átomo - gramo de oxígeno.



Cálculo 1 ml. de solución décimo normal de permanganato de potasio equivale a 0.002004 gr. de calcio.

#### DETERMINACION DE FOSFORO.

##### Reactivos:

Acido nítrico concentrado.

Solución molibdica de Wagner- Stutzer. En la cantidad menos posible de agua se disuelven 150 gr. de molibdato de amonio, se añade 400 gr. de nitrato de amonio y se diluye hasta un litro. Después se agrega un litro de ácido nítrico con 1.2 de densidad. Se guarda a 35° durante 24 horas y se filtra.

Solución acuosa que contenga 150 gr. de nitrato de amonio y 10 gr. de ácido nítrico.

Hidróxido de amonio al 25%.

Mezcla magnésica, constituida por 275 gr. de cloruro de magnesio, - 350 gr. de cloruro de amonio y 1.75 litros de hidróxido de amonio al 8%, disuelto en agua, cuyo volumen se eleva a 5 litros, todo lo cual, se deja reposar varios días y entonces se filtra.

Alcohol de 96° con el 3% de nitrato de amonio.

Técnica.- Se colocan 20 ml. de la solución de sustancias minerales, se evapora tres veces con ácido nítrico para eliminar el ácido clorhídrico. La solución nítrica del residuo se coloca en 50 ml. de la solución molíbdica, se coloca sobre un baño maría calentando hasta 80° C. donde se deja toda la noche.

Se decanta sobre un filtro pequeño y se lava con la solución acuosa de nitrato de amonio, sin llevar el precipitado al filtro. Se coloca el embudo con su filtro sobre un vaso de precipitado y se disuelve el precipitado con hidróxido de amonio y se lava con agua muy caliente.

Se diluye, hasta unos 100 ml. con hidróxido de amonio, con el cual se disuelve el resto del precipitado de molibdeno. Se hace la precipitación, sin dejar de revolver con energía, añadiendo gota a gota la mezcla magnésica. Al día siguiente se colecciona el precipitado en un crisol filtrante de Gooch de Neubauer pesado y se lava con hidróxido de amonio y alcohol.

El resto del alcohol se quema y se incinera el residuo con cuidado durante tres minutos, sobre la llama y durante 4 minutos en la mufla. Se enfría dentro del desecador y se pesa. (para la determinación aislada del fósforo se dispone una disolución directa de las cenizas en ácido nítrico).

Cálculo.- El factor de corrección del fósforo es de 0.2786.

El peso del fosfato magnésico obtenido ( $Mg_2P_2O_7$ ) debe alcanzar, cuando menos, 0.07 gr.

Fosfatos.- Las sales fosfóricas presentes en la leche son de índole mineral o bien orgánica aproximadamente el 80% de la totalidad está constituida por fosfatos minerales. Por consiguiente, procede considerar los fosfatos globales, determinados en las cenizas, los fosfatos orgánicos que se valoran en el coágulo y los fosfatos minerales que se evalúan directamente en la leche.

Los fosfatos minerales se pueden determinar por dos técnicas, una basada en reacciones cromáticas, que se valoran comparándolas en el colorímetro con patrones, y el procedimiento volumétrico.

Para la determinación colorimétrica basta con 1 ml. de leche que se introduce en un matraz aforado de 100 ml. se excluye la substancia orgánica tratándola con dos gotas de ácido acético y otras dos gotas de reactivo de Tanret. Se enrasa a la marca con agua, se agita, se filtra y en el filtrado se determina la cantidad de fósforo añadiendo 6 ml. de reactivo de Denigés, partes iguales de ácido sulfúrico concentrado y molibdato de amonio al 10% en contacto durante una hora con limadura de hierro. Se hierve 10 segundos y el color azul desarrollado se compara con una escala patrón.

Técnica.- Por volumetría.- Sabiendo que un mililitro de sosa décimo normal equivale a 7.1 miligramos de anhídrido fosfórico, se determinan los fosfatos de la leche midiendo 10 ml. de ésta; añadiéndole una gota de oxalato de potasio neutro (saturado), ajustando su pH, con fenoftaleína, a 9.3 por medio de sosa y agregando después otros 10 ml. de solución décimo normal de sosa y un ml. de solución normal de cloruro de calcio. Se deja reposar y después se determina el exceso de sosa con ácido sulfúrico décimo normal. El exceso de sosa así determinado, restando los 2 ml. agregados multiplicado por 7.1 expresa los miligramos de fósforo presentes en los 10 ml. de leche utilizados.

Determinación cuantitativa de fósforo por microsedimentación. Se obtienen las cenizas de un ml. de leche y se disuelven agregándole igual volumen de éter exento de alcohol. Se mide el mismo volumen de solución de molibdato de sodio al 4% y se adiciona a la solución anterior fraccionadamente, en tres o cuatro veces, agitando con vigor cada vez. Se forma un precipitado que se separa centrifugando, el cual representa el fósforo total de la leche.

Se dispone de otras técnicas para determinar tanto el fósforo como el calcio presentes en la leche.

Técnica.- Se obtienen las cenizas de 200 a 250 ml. de leche; se disuelven en caliente, en ácido clorhídrico diluído con unas gotas de ácido nítrico. Se filtra y se lava perfectamente el filtro con las cenizas, cuyo punto final se determina por la falta de cloruros en el filtrado. Se alcaliniza el filtrado con hidróxido de amonio, con lo cual se forma un copioso precipitado, sobre todo, por fosfatos cálcicos.

Se disuelve el precipitado con el mínimo posible de solución de - citrato de amonio al 50%. De esta manera, el fósforo y el calcio quedan disueltos. A partir de esta solución se inicia la labor de separar el fósforo del calcio. El fósforo se precipita agregando en exceso la mezcla magnesia-na.

Hidróxido de amonio (d 0.96) .....	260 ml.
Cloruro de magnésio .....	68 gr.
Cloruro de amonio .....	165 gr.
Agua destilada hasta completar un litro.	

De este modo se constituye fosfato amónico magnésico, completán-dose la reacción en 24 horas.

El precipitado se recoge en un filtro exento de cenizas que se la-va con agua amoniacal al 10%. El filtrado se seca, se calcina con el preci-pitado en un crisol de peso conocido y de este modo, el fosfato amóniaco mag-nesio se transforma en pirofosfato magnésico, que multiplicado por el factor 0.6396, se convierte en anhídrico fosfórico.

#### Determinación del ácido fosfórico, en las cenizas:

Las cenizas de la leche se tratan varias veces con ácido nítrico - para insolubilizar el ácido silícico presente en escasa proporción en la le-che. El residuo se disuelve en agua acidulada con ácido nítrico y se filtra. Si en las mismas cenizas se proyectan otras determinaciones, se eleva el volu-men del filtrado. Tómese una parte alicuota del mismo, de ordinario la mi--tad. Es preferible utilizar la totalidad de las cenizas obtenidas. Al fil-trado se le agrega una solución saturada de nitrato de amonio y se calienta

hasta la ebullición. Al líquido hirviendo se le añade una solución ácida de molibdato de amonio en exceso y se deja sedimentar en caliente.

Se filtra caliente evitando que pase, al filtrar, la mayor parte - del precipitado. El precipitado se decanta repetidas veces con solución de nitrato de amonio y después se disuelve sobre el filtro con amoníaco al 5%,- y esta solución se vierte en el vaso de precipitado que contiene la mayor - parte del precipitado, se lava bien el filtro con ácido clorhídrico diluído. A la solución ligeramente alcalina se le agrega en frío la mezcla magnésica y todavía un poco de amoníaco se deja en reposo toda la noche, para que sedi- mente y se filtra, el filtro se lava con hidróxido de amonio diluído y, es- tando aún húmedo, se incinera.

La cantidad del fosfato magnésico obtenida multiplicando por el - factor 0.279 expresa el peso de fósforo presente en la cantidad de leche uti- lizada; y multiplicando este resultado por el factor 0.640, se averigua el - peso del ácido fosfórico ( $P_2O_5$ ).

En la solución de Newmann. - En esta determinación se tendrá en - cuenta que para la oxidación, se han de emplear más de 40 ml. de la mezcla ácida. Al líquido incoloro se le añaden 150 ml. de agua y 50 ml. de solu- ción al 50% de nitrato de amonio. Se calienta hasta que se inicie la ebu- llición y, se agregan 40 ml. de solución al 10% de molibdato de amonio. Se agita con vigor y se deja en reposo 15 minutos sin volverlo a calentar. Des- pués se vierte el líquido sobre un filtro humedecido procurando que el sedi- mento quede en el matraz. Una vez vertido el líquido, se introducen en el matraz unos 100 ml. de agua helada, se agita con energía, y esta agua de la- vado también se vierte sobre el filtro. Se prosigue este lavado hasta que el agua de lavado ya no muestre reacción ácida al tornasol.

El precipitado de fosfomolibdato se disuelve en hidróxido de amo- nio. El filtro lavado se introduce en el matraz que contiene la mayor par- te del precipitado, se añaden 150 ml. de agua, se agita con vigor para frac- cionar el filtro y, desde una bureta, se agrega una cantidad medida de solu-

ción de hidróxido de sodio .1 N, hasta que el precipitado se haya disuelto - por completo. Después se pone un exceso de 5 a 10 ml. de solución de hidróxido de sodio y se hierve hasta que el papel tornasol humedecido no pueda - descubrir la presencia de hidróxido de amonio en los vapores emitidos. Se - enfría en agua, se agrega 0, 5 ml. de solución de fenolftaleína y se valora el exceso de hidróxido de sodio con solución .1 N de ácido sulfúrico. La diferencia entre el número de centímetros cúbicos de solución .1 N de hidróxido de sodio empleados y el número de ml. gastados de solución .1 N de ácido sulfúrico para neutralizar, multiplicada por el factor 1,268 expresa los miligramos de ácido fosfórico ( $P_2O_5$ ) presentes en la cantidad de leche empleada para el ensayo.

#### Determinación del azufre.

Reactivos necesarios.- Peróxido sódico, Carbonato sodicopotásico,- Agua de bromo, con el 1%, en volumen, Acido clorhídrico concentrado, Cloruro bárico al 10%.

Técnica.- Se toman 50 ml. de leche, se les agregan 2 a 3 gr. de - peróxido de sodio, se mezcla rápidamente y se evapora bien en una cápsula. A esta se le añaden 10 gr. de carbonato sodicopotásico y 2 a 3 gr. de peróxido sódico, se mezcla con un alambre de níquel, se calienta hasta que se inicia la reacción, sobre una llama muy pequeña.

Se vuelve a calentar añadiendo porciones pequeñas de peróxido de - sodio, hasta que termine la reacción, al final sobre una llama grande. La - masa fundida se enfría mojándola, se disuelve en agua muy caliente y se pasa, con agua, a un Erlenmeyer de un litro de capacidad.

Luego se agregan unos 20 ml. de agua de bromo, se monta un embudo y, con cuidado, se acidula con ácido clorhídrico. Se introducen 1 ó 2 perlas ásperas, y el bromo sobrante se expulsa por ebullición. La solución, que por lo menos, ha de medir 500 ml. se pone en un vaso de precipitado, se calienta, se añaden unos 20 gr. de cloruro de amonio, y el sulfato de bario se precipipi

ta por la adición de unos 15 ml. de solución de cloruro de bario.

La varilla de cristal, utilizada como agitador, se lava y retira, y transcurridas 24 horas, se absorbe la mayor parte de la solución que cubre el precipitado. El precipitado se decanta sobre un filtro duro y pequeño, - lavándolo ocho veces con agua muy caliente y un poco acidulada con ácido -- clorhídrico. El precipitado debe acumularse, por completo, en el vértice - del filtro.

El filtro se introduce, con precaución, en un crisol pesado, incinerándolo con cuidado a baja temperatura. Después se eleva, poco a poco, la temperatura.

Una vez enfriado se añaden 2 gotas de ácido sulfúrico y después se evapora con cuidado en el desecador y se pesa.

Cálculo.- El factor correcto, en este caso, es de 0,1373 para el azufre. El peso del sulfato de bario obtenido ( $Ba SO_4$ ) ha de ser, por lo - menos, de 0,1 gr.

## PARTE EXPERIMENTAL

### DETERMINACION DEL CONTENIDO DE CALCIO EN LECHE

#### Objetivo:

Aplicar este método a todas las leches, líquidas o reconstruidas - por dilución o disolución, condensadas, evaporadas o descremadas.

#### Principio del método.

El contenido total de calcio en la leche es disuelto y las sustancias protéicas precipitadas con ácido tricloroacético. El calcio contenido - en el filtrado es precipitado como oxalato de calcio, el cual es separado por centrifugación y titulado con permanganato de potasio.

#### Los reactivos utilizados son:

Solución acuosa de ácido tricloroacético al 20% (peso/volumen).

Solución acuosa de ácido tricloroacético al 12% (peso/volumen).

Solución acuosa de oxalato de amonio saturado en frío.

Solución alcohólica (etanol) de rojo de metilo al 0.05% (peso/volumen).

Solución acuosa de ácido acético al 20% (volumen/volumen).

Hidróxido de amonio al 25%.

Solución acuosa de hidróxido de amonio (obtenida al mezclar 2 ml. de la solución al 25% con 100 ml. de agua).

Solución de permanganato de potasio 0.02 N.

Todos los reactivos deben tener grado analítico

Los aparatos y material utilizados para efectuar la determinación son:

Balanza analítica.

Bureta de 50 ml.

Pipetas de 2, 5, y 20 ml.

Papel filtro sin cenizas para filtración lenta.

Centrífuga.

Tubos para centrífuga 30 ml.

Perilla de succión con tubo capilar.

Baño maría.

Matraz aforado de 50 ml.

Procedimiento.- Antes de efectuar el análisis se calienta la muestra a 20° C. mezclando cuidadosamente. Si una dispersión homogénea de la grasa no se obtiene, se calienta gradualmente hasta 40° C. mezclándose lentamente y posteriormente se enfría a 20° C.

Precipitación de la muestra.- En el matraz aforado de 50 ml. se coloca alrededor de 20 gr. de leche. Añadiendo gradualmente con agitación la solución de ácido tricloroacético al 20% hasta la marca, se agita vigorosamente dejándose reposar 30 minutos. Después de este tiempo se filtra por el papel filtro en cenizas. El filtrado deberá ser limpio.

Precipitación del calcio como oxalato.- Para precipitar el calcio se colocan en la centrífuga 5 ml. del filtrado limpio y 5 ml. de ácido tricloroacético al 12%, 2 ml. de solución de oxalato de amonio, dos gotas de la solución de rojo de metilo e hidróxido de amonio hasta la obtención de un color amarillo, se agrega ácido acético hasta una coloración rosa. Se deja reposar por cuatro horas a temperatura normal, posteriormente se diluye con 20 ml. de agua y se centrifuga. Remover el líquido limpio que sobrenada por succión. - Se lavan las paredes de los tubos (con fuerza para dispersar el oxalato de calcio) y se agregan 5 ml. de solución de hidróxido de amonio diluido centrifugando durante 5 minutos. Nuevamente se remueve el líquido sobrenadante por succión y se procede a hacer tres lavados sucesivos.

Procedimiento.- Análisis volumétrico del oxalato.- Después de removido por sifón la última succión del lavado, se añade 2 ml. de la solución de ácido sulfúrico y 5 ml. de agua destilada al depósito de oxalato de calcio.

Se procede a poner el tubo a baño maría, cuando el oxalato esté -- completamente disuelto se titula con la solución 0.1 N de permanganato de potasio hasta que el color no se persista. La temperatura debe permanecer a 60° C. durante la titulación.

Blanco.- Llevar a cabo el blanco con todos los reactivos pero con 20 ml. de agua destilada en lugar de leche.

El contenido de calcio en la muestra se calcula de la forma siguiente:

$$\begin{aligned}\text{Contenido Ca \%} &= 0.004 (V - v) \frac{1000}{P} K \\ &= 0.4 (V - v) \frac{K}{P}\end{aligned}$$

Donde:

V = # de ml. de  $\text{KMnO}_4$  (0.1 N) usados en la titulación de la muestra.

v = # de ml. de  $\text{KMnO}_4$  (0.1 N) usados en el blanco.

P = peso en gramos de la muestra

K = factor de corrección por volumen del precipitado, resultado de la precipitación con tricloroacético.

Para la leche con:

3% de grasa K = 0.976    2% de grasa K = 0.980    1% de grasa K=0.985  
para la leche desnatada K = 0.989

La diferencia entre los resultados de determinaciones por duplicado no deben de exceder de 0.002 gr. de calcio en 100 gr. de la leche.

#### DETERMINACION DEL CONTENIDO DE FOSFORO EN LECHE

Objetivo:

Aplicar este método a todas las leches, líquidas o reconstruidas por disolución o dilución condensadas, evaporadas o descremadas.

Principio del método.- El contenido de fósforo es determinado colorimétricamente por reducción del fosfómolibdato de amonio con el diaminofenol (amidol) y la medición de la absorvancia de la disolución obtenida.

Reactivos:

Acido clorhídrico (H CL) 1.0 N.

Acido perclórico (H CL O<sub>4</sub>) 65% (densidad 1.61 gr. 1 ml. a 20° C)

Solución acuosa de molibdato de amonio (N H<sub>4</sub>)<sub>6</sub> Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4 H<sub>2</sub>O.

Solución de amidol; disolver en agua 1 gr. de amidol (2, 4 diaminofenol) clorhidrato: (N H<sub>2</sub>)<sub>2</sub> C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>OH · 2H Cl) y 20 gr. de metasulfito de sodio (o piro-sulfito): Na<sub>2</sub> S<sub>2</sub> O<sub>5</sub>. Alforar a 100 ml. prepare la solución al día.

Solución de fosfato de potasio monovalente K H<sub>2</sub> P O<sub>4</sub>. (ponga a - desecar fosfato de potasio monovalente durante dos horas a 105° C) de los cuales se puede trazar una curva de referencia para la determinación del fósforo, disolver 4.393 gr. de K H<sub>2</sub> P O<sub>4</sub> en -- agua y diluir a 1 litro (solución A) diluir 10 ml. de la solución A a 1 litro (solución B). 1 ml. de la solución B equivale a 10 microgramos de fósforo.

Aparatos:

Balanza analítica.

Mufla

Estufa de cultivo

Espectrofotocolorímetro

Matraces aforados de 100 ml. y de un litro

Pipetas de 1, 2, 5 y 10 ml.

Procedimiento.- Antes de comenzar el análisis, caliente la muestra a 20° - 22° C, mezcle cuidadosamente. Si no se obtiene una dispersión - homogénea de la grasa, caliente lentamente a 40° C mezcle suavemente y enfríe a 20° - 22° C.

Blanco.- Para preparar el blanco se remplazan los 5 ml. de la muestra por 5 ml. de agua, agregando todos los demás reactivos.

Determinación.- Se pesan cerca de 10 gr. de leche con una precisión de 10 miligramos, en un crisol. Se evaporan hasta desecar sobre el baño maría, después se completa la incineración en la mufla a una temperatura de 500° - 550° C hasta obtener cenizas blancas.

La preparación de la solución a partir de la ceniza se realiza después de enfriar la cápsula y se cubre con un vidrio de reloj y se disuelve con 2 ó 3 ml. de H Cl. 1 N.

Se pasa la solución a un matraz volumétrico de 100 ml. enjuagando el vidrio de reloj y la cápsula, transferir el agua de lavado al matraz y diluir a 100 ml. con agua, agitar y filtrar.

Se toma una alicuota de 10 ml. del filtrado y se pasan a un matraz volumétrico de 100 ml. y aforar a 100 con agua destilada.

Para la determinación colorimétrica del fósforo.- Se toman 5 ml. de esta solución y se colocan en un matraz aforado de 25 ml. Se añaden sucesivamente 2 ml. de ácido perclórico; 2 ml. de la solución de amidol, 1 ml. de la solución de molibdato de amonio y diluya con agua. Se esperan 5 minutos y se mide la absorbancia usando una celda de 1 cm. en el aparato a 750 mm.

Trazo de la curva estándar.- Colocar en cuatro matraces aforados de 25 ml. 3, 5, 7 y 10 ml. de la solución B preparada anteriormente.

Las cantidades anteriores equivalen a 30, 50, 70 y 100 microgramos de fósforo. Añádase sucesivamente los reactivos y mida la absorbancia a 750 mm, trace la gráfica de absorbancia contra la concentración del fósforo.

Cálculos.- El contenido de fósforo en la leche se obtiene expresado en gramos de fósforo por 100 gr. de leche con la siguiente fórmula:

$$P \% = \frac{m - \bar{m}}{50 M}$$

Donde:

m = el peso de fósforo en microgramos obtenido y contenido en 25 ml. de muestra alrededor de 50 mg. de leche.

$\bar{m}$  = el peso de fósforo en microgramos obtenido en el blanco.

M = el peso de la leche en gramos usado para calcinar.

Resultados:

La diferencia entre los resultados de determinaciones por duplicado, realizadas simultáneamente, no deben de exceder de 0.003 gr. de fósforo en 100 gr. de leche.

#### DETERMINACION DEL CONTENIDO DE FOSFORO EN LECHE

(Modificación al método anterior)

El fósforo es determinado colorimétricamente por reducción del -- fosfómolibdato de amonio con hidroquinona y la medición de la absorbancia de la disolución obtenida.

Reactivos y material:

Acido Perclórico. (H Cl O<sub>4</sub>) 65% (densidad 1.61 gr. 1 ml. a 20°C)

Acido clorhídrico (H Cl) 1.0 N.

Solución acuosa de Molibdato de amonio (N H<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4 H<sub>2</sub>O.

Solución de hidroquinona; (disolver 1 gr. de hidroquinona en -- agua) y 20 gr. de metabisulfito de sodio y aforar a 100 ml. prepare la solución al día.

Solución de fosfato de potasio monovalente  $K H_2 P O_4$ . (Póngase a desecar fosfato de potasio monovalente durante 1 o 2 horas), - disolver 4.393 gr. de  $K H_2 P O_4$  en agua y diluir a 1 litro (solución A) diluir 10 ml. de esta solución a un litro. (solución B), 1 ml. de la solución B equivale a 10 microgramos de fósforo (esta solución se emplea para trazar la curva de referencia).

**Aparatos:**

Balanza analítica.

Mufla

Estufa de cultivo

Espectrocolorímetro

Matraces, aforados de 100 ml. y de un litro.

Pipetas de, 1, 5, y 10 ml.

**Procedimiento:**

Se pesan cerca de 10 gr. de leche con una precisión de 10 miligramos, en un crisol. Se incinera en la mufla a una temperatura de 500 - 550° C. hasta obtener cenizas blancas.

La preparación de la solución a partir de las cenizas se realiza - después de enfriar el crisol y se cubre con un vidrio de reloj, y se disuelven con 2 o 3 ml. de H Cl.

Se pasa la solución a un matraz aforado de 100 ml. enjuagando el - vidrio y el crisol, y aforar a 100 ml.

Se toma una alícuota de 10 ml. del filtrado y se pasa a un matraz de 1 litro, y se afora a la marca con agua destilada.

Para la determinación colorimétrica del fósforo, se toman 5 ml. de esta solución y se colocan en un matraz aforado de 25 ml. Se añaden sucesi

vamente 2 ml. de ácido perclórico, 2 ml. de la solución de hidroquinona, - 1 ml. de la solución de molibdato de amonio y diluir con agua a la marca; - se espera 20 minutos y se mide la absorbancia usando una celda de 1 cm. a 620 nm.

Trazo de la curva estándar.

Se colocan 5 matraces aforados de 25 ml. en los cuales se miden - 1, 3, 5, 7, 10 ml. de la solución B preparada anteriormente, se añaden - sucesivamente los reactivos, y se mide la absorbancia a 620 nm.

Las cantidades anteriores equivalen a 10, 30, 50, 70, 100 microgramos de fósforo, trace la gráfica de absorbancia contra la concentración de fósforo.

Blanco.

Para preparar el blanco se reemplazan los 5 ml. de la muestra por 5 ml. de agua, y agregar todos los demás reactivos.

Los cálculos se llevan a cabo por el procedimiento anterior.

### RESULTADOS Y CALCULOS

Los resultados, obtenidos en la determinación del calcio en la leche en polvo, se expresa en la tabla siguiente:

	X	fd	d X - A	fd	fd <sup>2</sup>
	.7	4	-.3	- 1.2	1.44
	.8	10	-.2	- 2	4.00
	.9	21	-.1	- 2.1	4.41
A —	-1	11	0	0	0
	1.1	9	1	.9	.81
	1.2	3	2	.6	.36
	1.3	2	3	.6	.36
		$\Sigma f$ 60		$\Sigma fd$ -3.2	$\Sigma fd^2$ 11.38

Donde:

X = los datos obtenidos

f = la frecuencia

A = supuesta media aritmética

d = Las desviaciones de X.

fd = La frecuencia por las desviaciones

fd<sup>2</sup> = La frecuencia por las desviaciones al cuadrado.

Los cálculos para la determinación del calcio se realizaron de la forma siguiente: Se determina la media y la varianza, el valor de la media se usará para determinar la concentración de calcio en la leche. La varianza nos da lo veraz del método.

Fórmulas:

$$\bar{X} = \frac{\sum f\bar{x}}{N} = \frac{56.8}{60} = .9466$$

$$\bar{X} = A + \frac{\sum fd}{N} = 1 + \frac{(-3.2)}{(60)} = 1 - .0533 = .9466$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum fd^2}{N} - \left(\frac{\sum fd}{N}\right)^2} = \sqrt{\frac{11.38}{60} - \left(\frac{-3.2}{60}\right)^2} = \sqrt{.18966 - .002844}$$

$$S = \sqrt{.1868155}$$

$$S^2 = .186815$$

Donde:

$\bar{X}$  = Media aritmética calculada a partir de los datos obtenidos.

$S^2$  = Varianza

Contenido de calcio en la leche.- Para efectuar las determinaciones de la tabla, se partió de una muestra de 3 gr.  $K = .972$

$$\% \text{ Ca} = .0004 (V - v) \frac{1000}{P} \quad K = .4 (V - v) \frac{K}{P}$$

$$\% \text{ Ca} = .4 \quad (.9466 - .85) \frac{.972}{3}$$

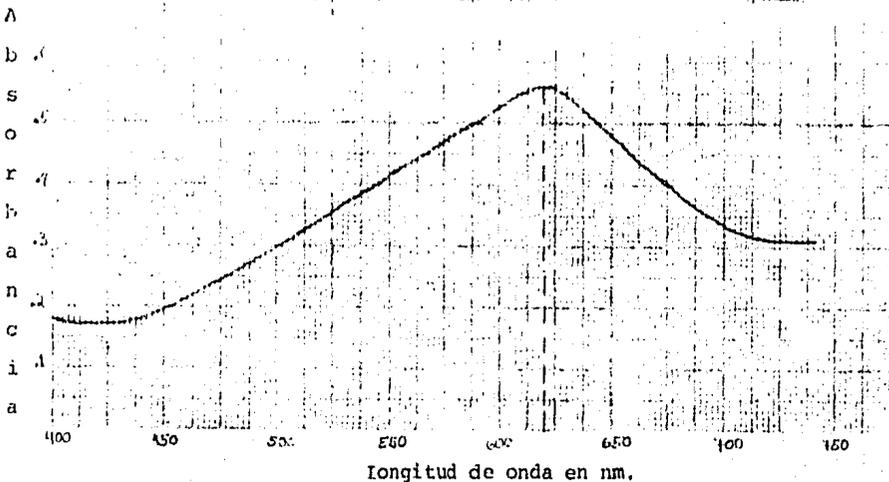
$$\% \text{ Ca} = .0125193 \quad \delta \quad 1.25193 \quad \%$$

El fósforo se determinó clorimétricamente por reducción del fosfomolibdato de amonio con la hidroquinona y la medición de la absorbancia de la disolución obtenida.

ESPECTRO DE LA ABSORCION

Longitud de onda en n.m	Blanco		1		3		5		7		10	
	T	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	A
400	100	0	97	.015	89	.03	83	.07	80	.1	69	.165
420	100	0	97	.015	87	.06	79	.105	77	.115	67	.17
440	100	0	96	.019	86	.065	77.5	.118	73.5	.135	64	.19
460	100	0	95	.02	84	.075	73.5	.135	70.5	.157	60	.22
480	100	0	94	.021	80	.1	69	.165	65.5	.185	54	.295
500	100	0	94	.021	78	.11	60.5	.175	61	.23	49	.31
520	100	0	93.5	.028	78	.11	63	.2	58.5	.24	47	.345
540	100	0	93	.03	74	.13	59.5	.23	54	.295	41	.39
560	100	0	92.5	.035	70.5	.15	55	.26	49	.31	37	.43
580	100	0	91	.038	70	.155	53	.27	46	.352	33	.48
600	100	0	90.5	.04	69	.165	51	.315	43.5	.38	31	.505
620	100	0	90	.045	67	.175	50	.3	40	.405	29	.552
640	100	0	92	.035	68	.17	49	.31	44.5	.35	31	.505
660	100	0	94	.025	70	.155	54	.245	48	.32	36	.44
680	100	0	95.5	.02	74	.13	59	.229	53.5	.27	42	.38
700	100	0	96.5	.015	78	.11	63.5	.2	58	.24	47	.34
720	100	0	97	.01	78	.11	65	.185	61	.215	49	.31
740	100	0	98	.009	80	.1	66	.17	62	.21	50	.3

T % Transmitancia      A Absorbancia.

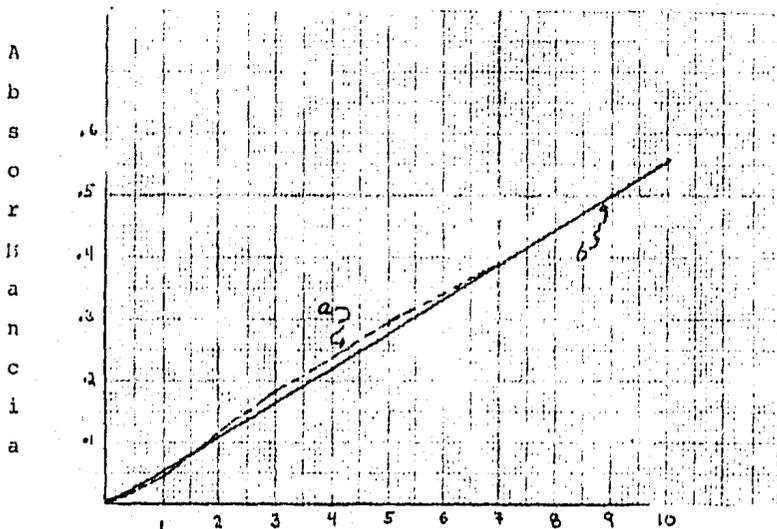


SERIE TIPO

IVANCO		1		3		5		7		10	
T	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	A
100	0	90	.045	65	1.85	52	.29	41	.39	29	.552
100	0	91	.042	66	.18	53	.27	40	.405	29	.552
100	0	89	.05	64	.19	51	.31	41	.39	28	.565
100	0	90	.045	66.5	.175	50	.3	41	.39	27	.567
100	0	90	.045	67	.17	50	.3	41.5	.385	29	.557

PROMEDIO

100	0	90	.0454	65.7	.18	51.2	.295	40.7	.392	28.4	.558
-----	---	----	-------	------	-----	------	------	------	------	------	------



Concentración en microgramos por litro.

a = real      b = teórica

Ajuste por mínimos cuadrados (método I)

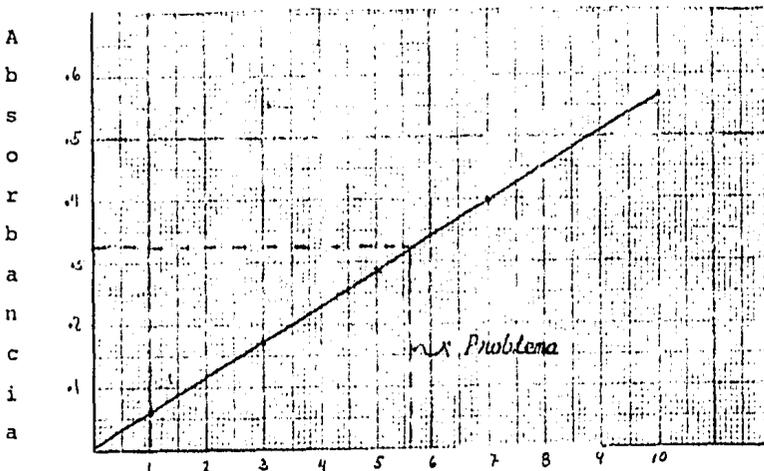
X	Y	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	X Y
0	0	0	0	0
1	.0454	1	.0026	.0454
3	.18	9	.0324	.54
5	.295	25	.0870	1.475
7	.392	49	.1537	2.744
10	.556	100	.3091	5.56
Σ x 26	Y 1.468	Σ X <sup>2</sup> 184	Σ Y <sup>2</sup> .584	Σ XY 10.344

$$a_0 = \frac{(\sum Y) (\sum X) - (\sum X)(\sum Y)}{N \sum X^2 - (\sum X)^2} = \frac{(1.468) (184) - (26) (10.344)}{(6) (184) - (26)^2} = .002$$

$$a_1 = \frac{(N) \sum XY - (\sum X) (\sum Y)}{N \sum X^2 - (\sum X)^2} = \frac{(6) (10.344) - (26) (1.4684)}{6 (184) - (26)^2} = 0.561$$

$$Y = a_0 + a_1 X \quad Y = .002 + .0561 X$$

Concentración	0	1	3	5	7	10
Absorbancia	.002	.0581	.1703	.2825	.3947	.563



Ajuste por mínimos cuadrados (método II)

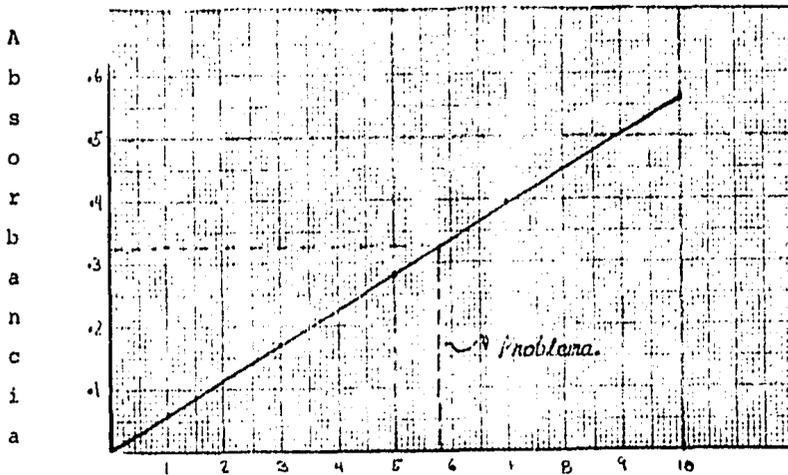
X	Y	$x=X - \bar{X}$	$y=Y - \bar{Y}$	xy	$x^2$	$y^2$
0	0	- 4.33	- .244733	1.0597	18.7489	.0599
1	.0454	- 3.33	- .199333	.6638	11.0889	.397
3	.18	- 1.33	- .064733	.0861	1.7689	.0042
5	.295	.67	.050267	.0337	.4489	.0025
7	.392	2.67	.147267	.3932	7.1289	.0217
10	.558	5.63	.320500	1.8044	32.1489	.0969
$\Sigma X = 26$ $\bar{X} = 4.33$	$\Sigma Y = 1.425$ $\bar{Y} = .2375$			$\Sigma xy = 4.0014$	$\Sigma x^2 = 71.3334$	$\Sigma y^2 = .2249$

$$y - \bar{y} = \frac{\Sigma xy}{\Sigma x^2} (x - \bar{x}) \quad y - .2375 = \frac{4.0014}{71.3334} (x - 4.33)$$

$$Y = .245 + .0561 (X-4.33) \quad Y = .245 - .243 + .0561 X$$

$$Y = .002 + .0561 X$$

Concentración	0	1	3	5	7	10
Absorbancia	.002	.0581	.1703	.2825	.3947	.563



Concentración en microgramos por litro.

T	A	f	f x
50	.3	13	3.9
49	.31	5	1.55
48	.32	4	1.28
47	.345	5	1.725
46	.352	10	3.52
45	.358	2	.716
44	.359	1	.359
		$\Sigma f$ 40	$\Sigma fx$ 13.052

$$\bar{X} = \frac{\Sigma fx}{N} = \frac{13.052}{40} = 0.3263$$

El fósforo contenido en la leche se determina con la media de los datos obtenidos colorimétricamente. El peso de la muestra fue de 100 gr.

$$\%P = \frac{m - \bar{m}}{50 M} = \frac{56 - 0}{50 (100)} = 0.0112 \quad \text{ó} \quad 1.12 \% P$$

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos establecen que los métodos descritos en este trabajo, nos permiten determinar en el laboratorio con facilidad y rapidez, tanto el fósforo como el calcio, en las leches en polvo.

Dichos resultados también establecen que el contenido de calcio y fósforo de la leche en polvo analizada cumple con lo especificado por las normas de la Federación Internacional de la leche.

Al iniciar la experimentación, siguiendo la técnica conocida para la determinación mencionada, se tuvo que cambiar el agente reductor 2.4 - diaminofenol (amidol) - ante la dificultad para conseguirlo por hidroquinona, para lo cual fue necesario efectuar un espectro de absorción para determinar la longitud de onda y el lugar donde existe el máximo de absorción. Siendo la longitud de 620 mm. para la hidroquinona.

## BIBLIOGRAFIA

Dr. José Ma. Rosell, Dr. Igancio dos Santos.  
Métodos Analíticos de Laboratorio de Lactología, Ed. Labor S.A. Barcelona,  
1956.

Charles Alais.  
Ciencia de la Leche. Principios de técnicas lecheras, Ed. C.E.C.S.A.,  
México 1970.

Evertt L. Fouts, Theodore R. Freenan.  
Dairy manufacturing processes. New York. John Wiley & Sons, Inc.  
London Chapman & Hall LTD. 1948.

Arthur W. Farrall.  
Drairy Engineering.  
New York Wiley & Sons. Inc. London. Chapman & Hall LTD. Second edition, 1953

Henry F. Judkins, Harry Akeener.  
La Leche su producción y procesos Industriales.  
Ed. Compañía Continental, S.A. México, 1962.

Robert Jenness, Stuart Patton.  
Principles of Dairy chemistry. New York. John Wiley & Sons, Inc. London.  
Chapman & Hall Limited, 1959.

Standard Methods of Chemical Analysis. N. Howell Furman Editor.  
Robert E. Krieger Publishing. Company H. untington, New York 1975.

Roger Veissegre.  
Lactología Técnica. Ed. Auribia.  
Zaragoza España, 1972.

Standard Methods. For the examination of dairy products. American  
public Hearth Association. Inc. New York. 1953.

International Dairy Federation. International Standard. FIL / IDF  
36. 1966. Determination of the calciun content of milk.

International Dairy Federation. International Standard FIL/IDF 42.1967.  
Determination of the phosphorus content of milk.

W. James, Harper. Carl, W. Hall. Dairy Technology and Engineering.  
Westport. The Avi Publishing Company. Inc. 1976.

Henry, V. Atherton. J. A. Newlander. Chemistry and testing of Dairy  
Products. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. 1981.

L.C. Thomas B. Sc, F.R.I. C.G.J. Chamberlin. The Tintometer LTD,  
Salisbury, England. 1980.

Woodman, A.G. Food Analysis Typical Methods of the Interpretation of  
Results. Mc. Graw Hill Books Inc. New York, London, 1941.

Cow's Milk. Compn and Physical Properties: Dahlberg, Proc. Ann Conv.  
Milk Ind. Foundation, Lab. Sec. 46, 44 (1953).