

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA  
ESCUELA DE QUÍMICA

DETERMINACIÓN DE VITAMINA C EN JUGOS POR COULOMBIMETRÍA

Por: Katherine C. Paganini Guerrero

Profesor Asesor: M. Q. A. Orlando Leone

Trabajo de graduación presentado a la Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología como requisito parcial para optar por el título de Licenciada en Química.

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2019

## Resumen

Se desarrolló una metodología coulombimétrica de bajo costo para uso en la docencia superior y se aplicó para el análisis de Vitamina C en medio acuoso, específicamente para jugos envasados comerciales. Se validó el método en cuanto a precisión, linealidad y límite de detección. Las muestras comerciales a las cuales se aplicó este método electroquímico fueron comprobados en cuanto a la declaración de vitamina C en su contenido.

### Dedicatoria

A mi madre, Yadira Guerrero, quien fue el pilar para iniciar el camino de la ciencia, siendo el apoyo constante para seguir adelante.

## Agradecimientos

Agradezco primeramente a Dios por haber logrado culminar esta carrera. Al profesor Orlando Leone por haberme permitido trabajar con él, por ser mi mentor, haberme brindado los conocimientos necesarios para desarrollar y culminar este trabajo. A la profesora Maritza de Leone mis más sinceros agradecimientos por brindarme todo su apoyo y los conocimientos necesarios para forjar mi criterio como una profesional de la química y la investigación. Al profesor Manuel Villanueva por haberme brindado todo su apoyo y las herramientas que necesité para el desarrollo de este trabajo.

A mi esposo, el Dr. Renato Da Costa quien fue un apoyo fundamental en todo este proceso, quien no me dejó desistir y siempre tenía una palabra de aliento.

A mí abuelo Franklin Cianca, infinitas gracias.

A todas aquellas personas que de una u otra manera me brindaron su apoyo, gracias.

## INDICE GENERAL

	Pág.
1. Objetivos del estudio	9
2. Generalidades	10 -17
3. Area de estudio y toma de muestras.	18
4. Marco Experimental.	20
4.1 Materiales de vidrio	21
4.1.1.1 Calibración de probetas	21
4.1.1.2 Calibración de matraces volumétricos	21
4.2 Preparación de reactivos	22
4.2.1.1 Preparación del indicador de yoduro de potasio	22
4.2.1.2 Preparación de la solución de almidón ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	22
4.2.1.3 Preparación de la solución de Vitamina C ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ )	23
4.3 Equipos utilizados	23
4.4 Metodología	27
4.5 Resultados y Discusión	29
4.6 Validaciones	30
4.7 Aplicación del método en jugos de naranja comerciales	47
4.8 Conclusiones	48

## ÍNDICE DE TABLAS

Título	Pág
1. Ingesta diaria recomendada (IDR) para la vitamina C.	16
2. Validación del método analítico, estudio de precisión control 2 mL vit C 100 ppm, corrida 1.	31
3. Validación del método analítico, estudio de precisión control 2 mL vit C 100 ppm, corrida 2.	32
4. Validación del método analítico, estudio de precisión control 2 mL vit C 100 ppm, corrida 3.	32
5. Validación del método analítico, estudio de precisión control 3 mL vit C 100 ppm ,corrida 1.	33
6. Validación del método analítico, estudio de precisión control 3 mL vit C 100 ppm , corrida 2.	33
7. Validación del método analítico, estudio de precisión control 3 ml vit c 100 ppm, corrida 3.	34
8. Validación del método analítico, estudio de precisión control 4 ml vit c 100 ppm, corrida 1.	34
9. Validación del método analítico, estudio de precisión control 4 ml vit c 100 ppm, corrida 2.	35
10. Validación del método analítico, estudio de precisión control 4 ml vit c 100 ppm, corrida 3.	35

11. Validación del método analítico, estudio de precisión control 5ml vit c 100 ppm, corrida 1.	36
12. Validación del método analítico, estudio de precisión control 5 ml vit c 100 ppm, corrida 2.	36
13. Validación del método analítico, estudio de precisión control 5 ml vit c 100 ppm, corrida 3.	37
14. Validación del método analítico, estudio de precisión control 5 ml vit c 100 ppm, corrida 4.	37
15. Validación del método analítico, estudio de precisión control 5 ml vit c 100 ppm, corrida 5.	38
16. Validación del método analítico, estudio de precisión control 5 ml vit c 100 ppm, corrida 6.	38
17. Validación del método analítico, estudio de precisión control 5 ml vit c 100 ppm, corrida 7.	39
18. Validación del método analítico, estudio de precisión control 5 ml vit c 100 ppm, corrida 8.	39
19. Validación del método analítico, estudio de precisión control 5 ml vit c 100 ppm, corrida 9.	40
20. Validación del método analítico, estudio de precisión control 6 ml vit c 100 ppm, corrida 1.	40
21. Validación del método analítico, estudio de precisión control 6 ml vit c 100 ppm, corrida 2.	41
22. Resumen de presición 2 ml 100 ppm.	42
23. Resumen de presición 3 ml 100 ppm.	42

24. Resumen de presición 4 ml 100 ppm.	43
25. Resumen de presición 5 ml 100 ppm.	43
26. Resumen de presición 6 ml 100 ppm.	44
27. Estudio del volumen de muestra vs precisión.	44
28. Regresión lineal.	46
29. Aplicación del método en jugos de naranja comerciales.	48



## OBJETIVOS DEL ESTUDIO

### Objetivo General:

- Desarrollar tecnología analítica de bajo costo aplicado a la Docencia Superior.

### Objetivos Específicos

- Desarrollar un equipo instrumental coulumbimétrico de bajo costo para la docencia universitaria.
- Desarrollar un método analítico para el análisis de vitamina C en medio acuoso.
- Validar los resultados en cuanto a precisión, linealidad y límite de detección.
- Aplicar la técnica coulumbimétrica desarrollada al análisis de vitamina C en jugos comerciales.
- Determinar el cumplimiento de la declaración del producto

## INTRODUCCIÓN

Este proyecto está basado en la determinación de Vitamina C en jugos de naranja comerciales en Panamá determinado por el método columbimétrico. El jugo de naranja es un producto de gran demanda comercial en Panamá lo cual cuenta con un reglamento que está basado en la Ley 45 del 31 de octubre de 2007. Artículo 36, Obligaciones del Proveedor. El cuerpo del ser humano necesita vitamina C para producir colágeno, una proteína necesaria para la cicatrización de las heridas.

Son obligaciones del proveedor frente al consumidor: Informar, clara y verazmente al consumidor, sobre las características del producto o servicio ofrecido, tales como la naturaleza, la composición, el contenido, el peso, el origen, la fecha de vencimiento, la toxicidad, las precauciones, el precio y cualquier otra condición determinante, todo lo cual se consignará en el empaque, el recipiente, el envase o la etiqueta del producto o en el anaquel del establecimiento comercial, en términos comprensibles y legibles.

Por lo tanto, se hace imprescindible el monitoreo y análisis de estos productos para verificar conformidad cuantitativa de esta vitamina en los jugos, una bebida muy utilizada tanto por adultos como por niños.

Antecedentes: En Panamá no hay publicación de trabajos de análisis de Vitamina C en jugos por técnicas columbimétricas, por lo que es importante la incorporación de esta técnica en la docencia universitaria.

La coulombimetría es una técnica electroquímica, donde se permite que circule corriente por la celda de trabajo hasta que se consuma el analito. Se basa en la idea de medir la variación de carga que circula en un instante dado por el sistema. La carga medida en unidades de Culombios (Q) se relaciona con la corriente (I) del siguiente modo:

$$Q = I \times t$$

Si el tiempo (t) se mide en segundos y la corriente en amperios, la carga se obtiene en colombios. La relación fundamental entre la carga y la concentración se puede encontrar en la Ley de Faraday, que establece que cada vez que circule una mol de electrones por el sistema, se depositará, disolverá o generará un equivalente de la especie en cuestión. La principal ventaja de este método frente al método de gravimetría es que se pueden analizar cantidades de analito muy pequeñas, que no serían posibles de determinar por variación de peso. Las desventajas principales tienen que ver con la necesidad de conocer perfectamente la reacción que se está llevando a cabo, no solo porque es necesario el número de electrones intercambiados (para el cálculo de los equivalentes), sino porque se debe evitar que ocurran otras reacciones que compitan con la de interés. En otras palabras, es ideal contar con una eficiencia de cien por ciento en la corriente empleada.

Luego de realizar el procedimiento de validación, y confirmar la fiabilidad de los resultados analíticos, podemos realizar los análisis de las muestras. El área de investigación se centra en los jugos de naranja fortificados con vitamina C con mayor consumo en la ciudad de Panamá en la Zona Centro.

## **2.MARCO TEÓRICO**

## 1.1 El método coulombimétrico.

Para la determinación de vitamina C en jugos se mide la variación de la carga (coulombios) que circula en un instante dado por el sistema. La carga, medida en unidades de Coulombios (Q) se relaciona con la corriente de la siguiente manera:

$$Q = I \times t$$

*Donde I es la corriente en amperios y t el tiempo en segundos.*

Si el tiempo se mide en segundos y la corriente en amperes, la carga se obtiene en coulombios.

La relación fundamental entre la carga y la concentración se puede encontrar en la Ley de Faraday, que establece que cada vez que circule un mol de electrones por el sistema, se depositara, disolverá o generará un equivalente de la especie en cuestión.

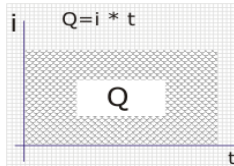
La carga del mol de electrones corresponde a 96 493 C (para los cálculos aproximados puede utilizarse el valor de 96500 C).

Esta técnica de análisis puede llevarse a cabo de varias maneras:

### **Coulombimetría Directa**

Se basa en la obtención de la cantidad de material que reacciona a partir de la cuantificación de la carga eléctrica (coulombios) empleada en la reacción. Esta medición, a su vez, puede llevarse a cabo de dos maneras diferentes:

### A corriente constante:



*Fig. 1 Ref: Mario Vazquez. Docente Instituto de Química U de A.*

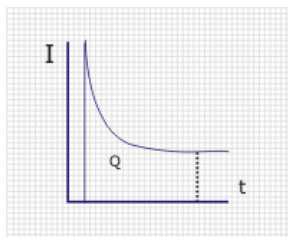
En este caso se aplica una corriente directa durante un determinado tiempo. Al conocerse los dos parámetros se puede calcular fácilmente el valor de la carga

$$Q = I \times t$$

Este método requiere un perfecto conocimiento de la solución de trabajo, puesto que puede ocurrir que luego de terminada la reacción de interés el potencial se mueva a valores donde comienzan otras reacciones electroquímicas y esto puede no ser advertido si no se monitorea la variación de potencial. Por lo anterior es difícil alcanzar una eficiencia de la corriente del 100%.

### A potencial constante:

En este caso, se aplica una diferencia de potencial constante en la celda de medida. Este valor se selecciona de modo tal de asegurar que solo la especie de interés sufrirá la reacción electroquímica. Ahora, la corriente variará continuamente con el tiempo, disminuyendo en la proporción que se vaya consumiendo la especie electroactiva.



*Fig. 2 Curva corriente tiempo.*

*Ref: Mario Vazquez. Docente Instituto de Química U de A.*

La carga se obtendrá a partir de la integral de la curva corriente-tiempo.

En la coulombimetría el número total de culombios consumidos en una electrólisis se usa para determinar la cantidad de sustancia electrolizada. Un potencióstato de tres electrodos mantiene un potencial de electrodo constante, monitoreando de continuo, el potencial del electrodo de trabajo con respecto al de referencia. Continuamente se ajusta la corriente para mantener el potencial deseado.

Para realizar una determinación coulombimétrica el analito se oxida o reduce normalmente en su totalidad en una disolución que se encuentra bajo agitación. La reacción redox se produce por la aplicación de un potencial externo. El electrodo de trabajo, que es donde ocurre la reacción del analito, puede estar construido de una variedad de materiales conductores de electricidad. La electrólisis del analito disminuye la concentración del mismo, en la disolución. A potencial constante, la intensidad de la corriente disminuye con el tiempo a medida que las especies electroactivas van difundándose, ya que gradualmente hay una disponibilidad de concentración en la superficie del electrodo para reaccionar.

### **Bioquímica de la vitamina C.**

La vitamina C o ácido ascórbico es un nutriente esencial. El hombre en concreto, carece de la enzima que cataliza la etapa terminal de la síntesis de ácido ascórbico, la gulonolactona oxidasa, por lo que debe adquirirlo a través de la alimentación, siendo esta la razón por la que en el hombre y en otras especies el ácido ascórbico adquiere el carácter de vitamina.

La vitamina C es un compuesto inestable, debido a la facilidad con la que se oxida e hidrata. Se destruye con facilidad en el procesamiento y conservación de los alimentos, por lo que es utilizada como indicador de la pérdida vitamínica de un alimento durante su procesamiento y almacenamiento. Por otra parte, el calor y los cationes metálicos destruyen la vitamina C.

La vitamina C se puede reconocer mediante el azul de metileno. Este colorante cuando está oxidado es de color azul y se reduce fácilmente formando un compuesto incoloro.

Las dosis recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la vitamina C se sitúan en 90 mg diarios para hombres y 75 mg para mujeres, tal como se aprecia en la Tabla 1.

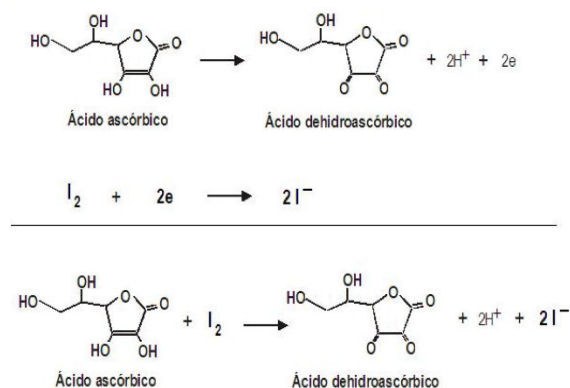
- Tabla 1. Ingesta diaria recomendada (IDR) para la vitamina C. Dr. GlenDettman, Frederick Todd Melbourne.

Etapa de la Vida	Edad	Machos (mg/día)	Hembras (mg/día)
Infantes	0-6 meses	40 (IA)	40 (IA)
Infantes	7-12 meses	50 (IA)	50 (IA)
Niños	1-3 años	15	15
Niños	4-8 años	25	25
Niños	9-13 años	45	45
Adolescentes	14-18 años	75	65
Adultos	19 años y más	90	75
Fumadores	19 años y más	125	110
Embarazo	18 años y menos	-	80
Embarazo	19 años y más	-	85
Período de lactancia	18 años y menos	-	115
Período de lactancia	19 años y más	-	120

En este trabajo se determinó el contenido de vitamina C mediante su oxidación en el ánodo por culombimetría. Se utilizó una disolución de yodo como indicador del punto final de la



valoración, adicionando una pequeña cantidad de almidón y de yoduro para formar un complejo morado. El yodo se forma por la oxidación del yoduro, una vez consumido toda la vitamina C, el cual se oxidó primero por tener un potencial REDOX menor al del yodo/yoduro.



**Fig. 3 Reaccion de oxido- reducción (REDOX).**

El almidón se utiliza como indicador para el yodo, debido a que forma un complejo de color azul intenso con el mismo. Cuando añadimos yodo sobre vitamina C producida por la oxidación del yoduro en el ánodo, ésta desaparecerá pues pasará a yoduro (la vitamina C se oxidará en el proceso). Cuando ya no quede vitamina C reducida el yodo no desaparecerá, se unirá al almidón y aparecerá el color azul indicando el fin de la titulación. El almidón se hidroliza con facilidad y uno de los productos de la hidrólisis es la glucosa, la cual tiene carácter reductor, por tanto, una disolución de almidón parcialmente hidrolizada puede ser una fuente de error en una titulación redox por lo que hay que añadir la menor cantidad posible.

NOTA: El color amarillo del zumo de naranja puede enmascarar en parte el color azul por lo que hay que tener cuidado para observar el cambio de color.

### **3. Área de estudio y toma de muestras**

### 3.1 Procedimiento de toma de muestra de jugos de naranja.

En Junio de 2018 se realizó un recorrido por distintas áreas de la zona centro de la ciudad de Panamá y se procedió a tomar distintas muestras al azar para el análisis, adquiriendo los jugos comerciales envasados en varios supermercados de la localidad. Los mismos se mantuvieron en refrigeración hasta su análisis.



*Fig. 4 Área de toma de muestras*

La determinación de vitamina C en las muestras de jugos recolectadas fue realizada en el Laboratorio de Espectrofotometría de Absorción Atómica de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, de la Universidad de Panamá, por el método columbimétrico.

## **4- MARCO EXPERIMENTAL**

#### 4.1 Materiales de Vidrio:

Como preparativos preliminares, se lavaron con agua destilada todos los instrumentos de vidrio y se dejaron secar a temperatura ambiente. Luego se procedió a calibrar la balanza analítica utilizando pesas certificadas (modelo 12720-084). Se validaron todos los instrumentos volumétricos de vidrio, para el control de la precisión y el error que se introducen en las mediciones.

##### 4.1.1 Calibración de probetas:

Se tomó un matraz erlenmeyer secado previamente y se dispuso en una balanza analítica. Se ajustó la balanza a cero y se procedió a medir la masa correspondiente a 10 mL de agua pipeteados con una probeta de 10 mL hasta drenaje completo por gravedad. Se repitió el procedimiento tres veces, y con ayuda del valor de la densidad del agua y la temperatura que presentó al momento de la calibración, se calculó el volumen experimental de agua correspondiente a la masa de agua pesada previamente. Se calculó el promedio del volumen experimental, la desviación estándar, el coeficiente de variación y el error relativo promedio. Este procedimiento se realizó de manera igual para la probeta de 50 y 100 mL.

##### 4.1.2 Calibración de matraces volumétricos:

Se rotularon 2 matraces volumétricos de 1 000 mL cada uno, previamente secados. Se dispuso uno de los matraces en la balanza analítica y se ajustó la misma a cero. Se procedió a llenar el matraz volumétrico de agua hasta la marca de aforo y se midió la masa de agua

contenida en el mismo. Se vació el matraz y se llevó a secar nuevamente, para luego repetir el procedimiento anterior hasta obtener un total de tres mediciones de masa de agua contenida en el matraz volumétrico. Con la ayuda de la densidad del agua y la temperatura del agua al momento de la calibración se calculó el volumen de agua experimental para cada repetición. Posteriormente se obtuvieron el promedio, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo. Se repitió el procedimiento con volúmenes de 100 mL.

#### 4.2 Preparación de reactivos:

##### 4.2.1 Preparación del indicador de Yoduro de Potasio:

Se pesó en la balanza analítica 8,3 g de KI que fueron diluidos en 250 mL de agua destilada contenida en un vaso químico de 500 mL. Una vez diluido el KI sólido se procedió a transferir la solución a un matraz volumétrico de 1 000 mL y se aforó hasta la marca. Esta solución constituye un agente titulante de KI 0,10M. Se rotuló la solución incluyendo fecha y el responsable de la preparación; la solución se colocó en un gabinete oscuro para protegerla de la luz.

##### 4.2.2 Preparación de la solución de $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ :

Se pesó en una balanza analítica 17,75 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  grado analítico que se diluyeron en 250 mL de agua destilada contenida en un vaso químico de 500 mL. Se transfirió la solución a un matraz volumétrico de 1000 mL y se aforó hasta la marca. Se rotuló la solución incluyendo fecha y el responsable de la preparación, la solución se colocó en un gabinete oscuro para protegerla de la luz.

#### 4.2.3 Preparación de la solución de almidón ( $C_6H_{10}O_5$ ) :

Se pesó en un abalanza analítica 1,0 g de almidón y se diluyeron en 250 mL de agua destilada contenida en un vaso químico de 500 mL, luego se calentó hasta un poco antes del punto de ebullición, se agitó hasta disolución y se dejó reposar. Luego se transfirió la solución a un matraz volumétrico de 1 000 mL y se aforó hasta la marca. Se rotuló la solución incluyendo fecha y el responsable de la preparación, la solución se colocó en un gabinete oscuro para protegerla de la luz.

#### 4.2.4 Preparación de la solución patrón de vitamina C , $C_6H_8O_6$ (100 ppm)

Se pesó en una balanza analítica 0,01 g de  $C_6H_8O_6$  y se diluyó en 50 mL de agua destilada contenida en un vaso químico de 100 mL. Una vez disuelto, se procedió a transferir la solución a un matraz volumétrico de 100 mL y se aforó hasta la marca. Se rotuló la solución como 100 ppm, incluyendo fecha y el responsable de la preparación, la solución se colocó en un gabinete oscuro para protegerla de la luz.

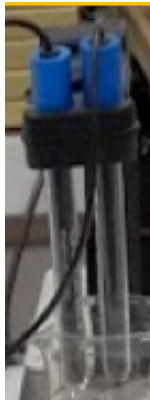
Estas soluciones se utilizaron frescas en cada análisis.

#### 4.3 Equipos utilizados:

A continuación en la figura 5,6,7,8,9 aparecen los equipos utilizados: multímetro digital 24-range Radio Shack, electrodos de platino grado ultra puro, amplificador lineal operacional DAEDALON CORPORATION modelo Eg-02, serial 1040, agitador magnético Agimatic Rev -E y el amperostato Mastech HY1803D



*Fig. 5: Multímetro digital Radio Shack 24R*



*Fig. 6: Electrodo de platino*



*Fig. 7: Amplificador lineal operacional DAEDALON CORPORATION modelo Eg-02*





**Fig 8:** Amperostato *Mastech HY1803D*

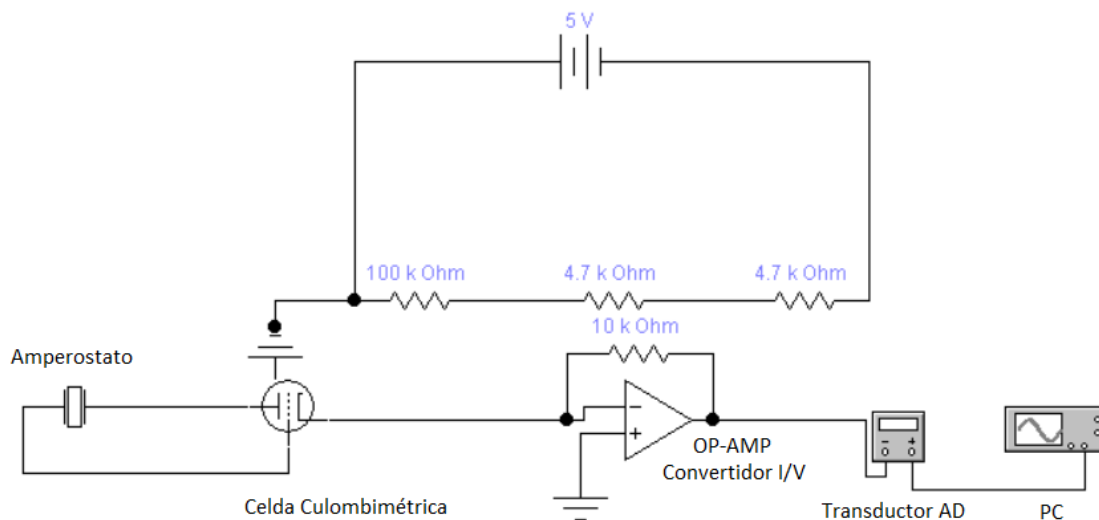


**Fig 9:** Agitador magnético

# Circuito Electrónico

La circuitería desarrollada consiste en:

- Resistencias
  - 100 k
  - 2 x 4.7 k
  - 1 x 10 k
- Circuito integrado amplificador :Op amp quad LM 324,
- Transductor ; Multímetro Radio Shack,
- Amperostato Mastech HY1803D
- Cable RS 232
- PC, Software RS interface
- Fuente DC 5 voltios (fuente de poder USB).



*Fig. 10: Circuito electrónico. Componentes*

#### 4.4 Metodología preliminar:

- 1- Se añade en un vaso químico 50 mL de KI 0,1 M, 20 mL de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,25 M, 1 mL de almidón. Colocar el agitador.
- 2- Se sumerge los electrodos generadores de platino en la solución. Se observa el color de la solución. Si no es azul lila, se enciende el culombímetro para generar el yodo hasta que se forme el color.
- 3- Se añade, 2 mL de una disolución de vitamina C de 100 ppm y se enciende el culombímetro, anotando la corriente impuesta inicial y tomando el tiempo con el cronómetro.
- 4- Se detiene el cronómetro y el culombímetro una vez que se haya formado nuevamente el color lila débilmente. Anotar la corriente final y el tiempo transcurrido en segundos.
- 5- Se multiplica el tiempo por el promedio de la corriente en mA para obtener los miliculombios consumidos.
- 6- Se repite el procedimiento con 2 mL de jugo para diferentes jugos comerciales.

Se optimizó el análisis culumbimétrico para la determinación de Vitamina C variando la cantidad de muestra (mL de estándar) a una corriente de 150 mA y determinando el tiempo de electrólisis. El desarrollo matemático se basó en que la cantidad de culombios generados es igual al producto de la corriente por el tiempo de electrólisis. Esta misma cantidad de culombios es igual a la cantidad de materia (moles  $n$ ), a la cantidad de electrones intercambiados por mol ( $z$ ) y a la constante de Faraday (96 500). Las relaciones matemáticas se muestran a continuación:

1.  $Q = i t$
2.  $Q = n Z 96,500$
3.  $n = g / PM$

Igualando tenemos 1 y 2:

$$4. i x t = n Z 96,500$$

y finalmente:

$$g = \frac{it PM}{96\ 500 Z}$$

Como el PM, Z y 96500 son constantes, la cantidad de materia g depende sólo de i y de t

$$g = K i t$$

y si se utiliza un estándar de concentración  $g_0$  se puede eliminar la constante K al medir relativamente la muestra de concentración g y el estándar  $g_0$ .

$$g/g_0 = i_1 t_1 / i_0 t_0$$

donde  $i_1 t_1$  son respectivamente la corriente y el tiempo de la muestra y

$i_0 t_0$  son respectivamente la corriente y el tiempo del estándar.

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### 4.5 Validaciones:

Se validó el método desarrollado optimizando primero la cantidad de vitamina C añadida. Para esto se determinó la precisión a diferentes cantidades (mL) de estándar de vitamina C (100 ppm), realizando diferentes repeticiones y determinando el coeficiente de variación.

A continuación en las siguientes tablas (Tabla 2 a 21) aparecen las valoraciones realizadas en diferentes corridas variando la cantidad de vitamina C añadida, es decir se procedió a determinar la precisión a concentración constante midiendo el coeficiente de variación. .

**Tabla 2 Validación del Método Analítico, estudio de Precisión  
Control 2 mL vit C 100 ppm  
Corrida 1**

Corrida 1	V Std 100 ppm	I (mA)	T (s)	Q milicou- lombios	Q prom	Des.Std.	CV
1	2	15,1	77	1 162,7	1060	98	9,2%
2	2	15	70	1 050			
3	2	14,9	65	968,5			

**Tabla 3 Validación del Método Analítico  
Estudio de Precisión Control 2 mL vit C 100 ppm  
Corrida 2**

<i>Corrida 2</i>	<i>Q milicu-lombios</i>	<i>Q prom</i>	<i>Des.Std</i>	<i>CV cor</i>
<i>1</i>	<i>1 196</i>	<i>1 119</i>	<i>73</i>	<i>6,5%</i>
<i>2</i>	<i>1 110</i>			
<i>3</i>	<i>1 052</i>			

**Tabla 4 Validación del Método Analítico  
Estudio de Precisión Control 2 mL vit C 100 ppm  
Corrida 3**

<i>Corrida 3</i>	<i>V Std 100 ppm</i>	<i>I (mA)</i>	<i>T (s)</i>	<i>Q milicu- lombios</i>	<i>Q prom</i>	<i>Des.Std.</i>	<i>CV</i>
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>15</i>	<i>83</i>	<i>1 245</i>	<i>1 197</i>	<i>41</i>	<i>3,44%</i>
<i>2</i>	<i>2</i>	<i>14,4</i>	<i>82</i>	<i>1 180,8</i>			
<i>3</i>	<i>2</i>	<i>14,6</i>	<i>80</i>	<i>1 168</i>			

**Tabla 5 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 3 mL vit C 100 ppm  
Corrida 1**

<b>Corrida 1</b>	<b>V Std 100 ppm</b>	<b>I (mA)</b>	<b>T (s)</b>	<b>Q milicou- lombios</b>	<b>Q prom</b>	<b>Des.Std.</b>	<b>CV</b>
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>14,8</b>	<b>86</b>	<b>1 272</b>	<b>1 328</b>	<b>124</b>	<b>9,3%</b>
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>14,6</b>	<b>85</b>	<b>1 241</b>			
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>14,7</b>	<b>100</b>	<b>1 470</b>			

**Tabla 6 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 3 mL vit C 100 ppm  
Corrida 2**

<b>Corrida 2</b>	<b>Q milicu-lombios</b>	<b>Q prom</b>	<b>Des.Std</b>	<b>CV</b>
<b>1</b>	<b>1321</b>	<b>1328</b>	<b>10</b>	<b>0.8%</b>
<b>2</b>	<b>1335</b>			



**Tabla 7 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 3 mL vit C 100 ppm  
Corrida 3**

<b>Corrida 3</b>	<b>V Std 100 ppm</b>	<b>I (mA)</b>	<b>T (s)</b>	<b>Q milicoulombios</b>	<b>Q. promedio</b>	<b>Des.Std.</b>	<b>CV</b>
<b>1</b>	<b>3</b>	<b>14,4</b>	<b>105</b>	<b>1 512</b>	<b>1 492</b>	<b>78</b>	<b>5,25%</b>
<b>2</b>	<b>3</b>	<b>14,3</b>	<b>109</b>	<b>1 558</b>			
<b>3</b>	<b>3</b>	<b>14,2</b>	<b>99</b>	<b>1 405</b>			

**Tabla 8 Validación del Método Analítico  
Estudio de Precisión Control 4 mL vit C 100 ppm  
Corrida 1**

<b>Corrida 1</b>	<b>V Std 100 ppm</b>	<b>I (mA)</b>	<b>T(s)</b>	<b>Q milicou- lombios</b>	<b>Q. prom</b>	<b>Des.Std.</b>	<b>CV</b>
<b>1</b>	<b>4</b>	<b>14,5</b>	<b>120</b>	<b>1 740</b>	<b>1 804</b>	<b>59</b>	<b>3,3%</b>
<b>2</b>	<b>4</b>	<b>14,4</b>	<b>126</b>	<b>1 814</b>			
<b>3</b>	<b>4</b>	<b>14,4</b>	<b>129</b>	<b>1 857</b>			

**Tabla 9 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 4 mL vit C 100 ppm  
Corrida 2**

Corrida 2	Q milicu-lombios	Q prom	Des.Std.	CV
1	1 816	1 963	142	7,3%
2	1 972			
3	2 100			

**Tabla 10 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 4 mL vit C 100 ppm  
Corrida 3**

Corrida 3	V Std 100 ppm	I(mA)	T(s)	Q milicu- lombios	Q.promedio	Des.Std.	CV
1	4	14,3	100	1 430	1 430	46	3,20%
2	4	14,2	107	1 519			
3	4	14,1	103	1 452			

**Tabla 11 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 5 mL vit C 100 ppm  
Corrida 1**

Corrida 1	V Std 100 ppm	I (mA)	T(s)	Q milicoulombios	Q. prom	Des.Std	CV
1	5	14,3	151	2 159	2 150	30	1,4%
2	5	14,3	152	2 173			
3	5	14,2	149	2 115			

**Tabla 12 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 5 mL vit C 100 ppm  
Corrida 2**

Corrida 2	$Q \cdot V_t / V_0$	Q. prom	Des.Std	CV
1	2 277	2 382	95	4,0%
2	2 410			
3	2 461			

**Tabla 13 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 5 mL vit C 100 ppm  
Corrida 3**

Corrida 3	V Std 100 ppm	I (mA)	T (s)	Q milicoulombios	Q.promedio	Des.Std	CV
1	5	13,7	152	2 082	2179,06	83,76	3,80%
2	5	13,6	164	2 230			
3	5	13,4	166	2 224			

**Tabla 14 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 5 mL vit C 100 ppm  
Corrida 4**

Corrida 4	V Std 100 ppm	I(mA)	T (s)	Q milicou- lombios	Q promedio	Des.Std	CV
1	5	13,4	154	2 063	2 214	169	7,60%
2	5	13,4	179	2 398			
3	5	13,3	164	2 181			

**Tabla 15 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 5 mL vit C 100 ppm  
Corrida 5**

Corrida 5	V Std 100 ppm	I (mA)	T (s)	Q milicou- lombios	Q promedio	Des.Std	CV
1	5	13,3	172	2 287	2 681	513	19%
2	5	13,2	189	2 494			
3	5	13	251	3 263			

**Tabla 16 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 5 mL vit C 100 ppm  
Corrida 6**

Corrida 6	V Std 100 ppm	I (mA)	T (s)	Q milicou- lombios	Q promedio	Des.Std	CV
1	5	16,4	83	1 361	1 404	43	3,10%
2	5	16,3	86	1 401			
3	5	16,1	90	1 449			

**Tabla 17 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 5 mL vit C 100 ppm  
Corrida 7**

Corrida 7	V Std 100 ppm	I (mA)	T (s)	Q milicou- lombios	Q promedio	Des.Std	CV
1	5	16	195	3 120	3 158	40	1,25%
2	5	16,1	196	3 155			
3	5	16	200	3 200			

**Tabla 18 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 5 mL vit C 100 ppm  
Corrida 8**

Corrida 8	V Std 100 ppm	I (mA)	T (s)	Q Milicou- lombios	Q promedio	Des.Std	CV
1	5	12	152,4	1 828	1 815	15	0,80%
2	5	11.8	154,2	1 819			
3	5	11.8	152,4	1 798			

**Tabla 19 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 5 mL vit C 100 ppm  
Corrida 9**

Corrida	V	I (mA)	T (s)	Q	Q. promedio	Des.Std	CV
	Std 100			Mili coulombios			
9	ppm						
1	5	11,9	199,8	2377,62	2919,67	816,36	27%
2	5	11,8	327	3858,6			
3	5	11,9	212	2522,8			

**Tabla 20 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 6 mL vit C 100 ppm  
Corrida 1**

Corrida	V	I (mA)	T (s)	Q	Q.prom	Des.Std	CV
	Std 100			Milicou- lombios			
1	ppm						
1	6	14,3	170	2 431	2 249	203	9,0%
2	12	14,2	161	2 286			
3	18	14	145	2 030			

**Tabla 21 Validación del Método Analítico.  
Estudio de Precisión Control 6 mL vit C 100 ppm  
Corrida 2**

Corrida 2	Q Milicu-lombios	Q. prom	Des.Std	CV
1	2 590	2 534	92	3,6%
2	2 584			
3	2 427			

### RESUMEN DEL ESTUDIO DE LA PRECISIÓN

En las tablas ( No. 23 al No. 27) aparecen resumidas, para cada volumen añadido de reactivo de 100 ppm, el promedio de la precisión obtenida, medida a través del coeficiente de variación. En la tabla No. 28 se observa el resumen de los resultados para todos los volúmenes utilizados. En la figura No. 11 se observa que la mejor precisión, menor coeficiente de variación, se obtiene añadiendo 5 mL del estándar de 100 ppm de Vitamina C, por lo que se decidió utilizar esta cantidad de muestra para todo el estudio.



**Tabla 22 Resumen de Precisión 2 mL 100 ppm**

Corrida	n	Q Promedio	Des. Std.	CV
1	3	1 060	98	9,2%
2	3	1 119	73	6,5%
3	3	1 197	41	3,44%
<b>PROMEDIO</b>	<b>9</b>	<b>1 125</b>	<b>71</b>	<b>6,4%</b>

**Tabla 23 Resumen de Precisión 3 mL 100 ppm**

Corrida	n	Q Promedio	Des. Std.	CV
1	3	1 328	124	9,3%
2	2	1 328	10	0,8%
3	3	1 492	78	5,2%
<b>PROMEDIO</b>	<b>9</b>	<b>1 383</b>	<b>71</b>	<b>5,1%</b>

**Tabla 24 Resumen de Precisión 4 mL 100 ppm**

Corrida	n	Q Promedio	Des. Std.	CV
1	3	1 804	59	3,3%
2	3	1 963	142	7,3%
3	3	1 430	46	3,2%
<b>PROMEDIO</b>	<b>9</b>	<b>5 197</b>	<b>82</b>	<b>4,5%</b>

**Tabla 25 Resumen de Precisión 5 mL 100 ppm**

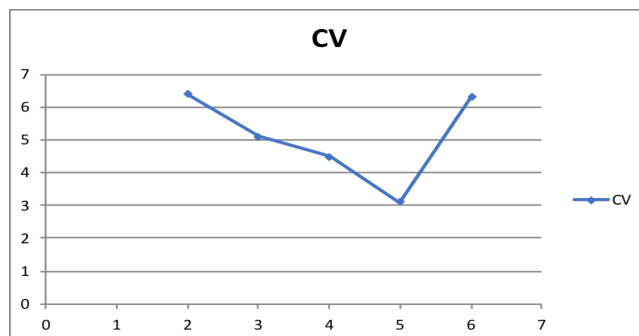
Corrida	n	Q Promedio	Des. Std.	CV
1	3	2 150	30	1,4%
2	3	2 382	95	4,0%
3	3	2 179	84	3,8%
4	3	2 214	169	7,6%
5	3	1 404	43	3,1%
6	3	3 158	40	1,2%
7	3	1 815	15	0,80%
<b>PROMEDIO</b>	<b>21</b>	<b>2 186</b>	<b>68</b>	<b>3,1%</b>

**Tabla 26 Resumen de Precisión 6 mL 100 ppm**

Corrida	n	Q Promedio	Des.Std.	CV
1	3	2 249	203	9,0%
2	3	2 534	92	3,6%
<b>PROMEDIO</b>	<b>6</b>	<b>2 392</b>	<b>148</b>	<b>6,3%</b>

**Tabla 27. Resumen de la precisión de los volúmenes estudiados.**

mL 100 ppm	CV
2	6,4
3	5,1
4	4,5
5	3,1
6	6,3



*Fig.11 Estudio del volumen de muestra vs precisión*

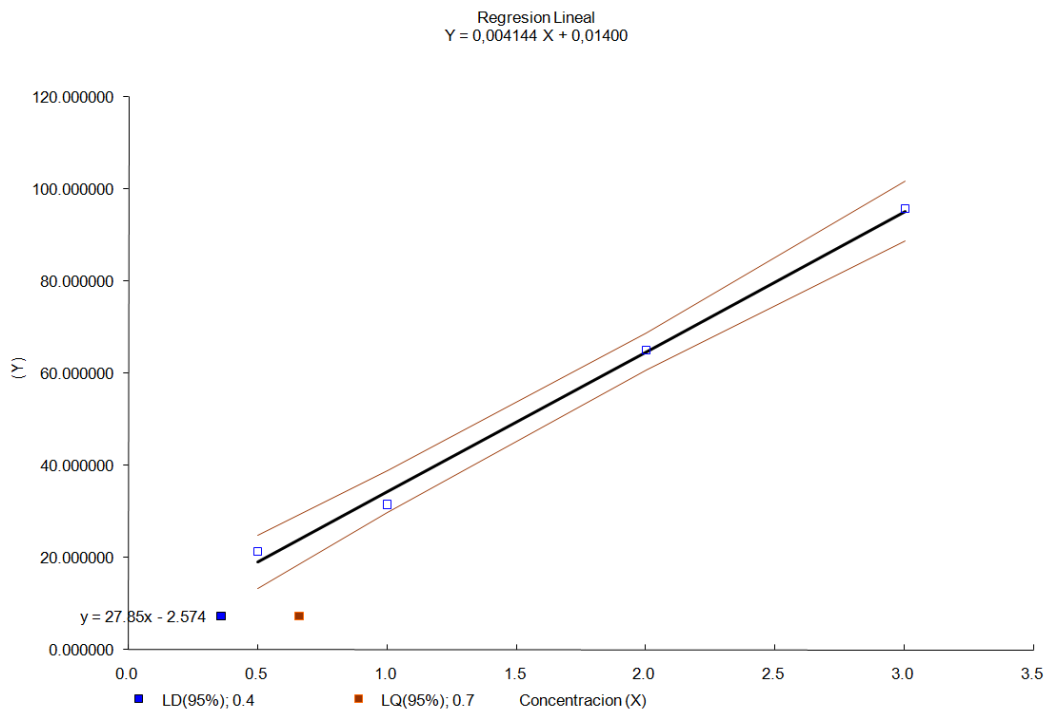
## Estudio de la linealidad

Para determinar la linealidad del método, se realizaron varios análisis a diferentes cantidades de reactivo del estándar de vitamina C (100 ppm) y se determinó los miliculombios consumidos en una misma sesión. Los resultados se incorporaron al programa de regresión lineal RLIN ver 2006 y se determinaron las variables de linealidad más importantes. En la tabla No. 22 se observan los resultados obtenidos. De interés es el coeficiente de variación de la pendiente de 4.4% (valor regular), un límite de detección de 0,2 mL de estándar al 95% de confianza que corresponde a una concentración de 4 ppm de Vit C, y un coeficiente de correlación de 0,9980716. En la figura 12 se aprecia la regresión lineal.

**Tabla 28 Regresión Lineal**

REGRESION LINEAL (Y=mX+b ±L.C.) Ver '2006 Prof. Orlando Leone							
n= 4		Fecha: 2019-07-30					
Conc(X)	(Y)	m	±s(m)	C.V. (m)	±LC(m)90%	±LC(m)95%	±s(res)
0.5	21.333	30.435028	1.3384466	4.40%	3.912447	5.765189	2.57020
1.0	31.500	b	±s(b)	C.V. (b)	±LC(b)90%	±LC(b)95%	CV(s)res
2.0	65.000	3.91808	2.52626	64.48%	7.3846	10.8816	4.82%
3.0	95.667	r	r2	t(90%)	t(95%)	Xprom	Yprom
		0.9980716	0.99614692	2.92	4.31	1.63	5.3E+01
		LOD(X)90%	LOD(X)95%	LOQ(X)90%	LOQ(X)95%	LOD(Miller)	
		0.2	0.4	0.5	0.7	0.3	
C A L C U L O S D E C O N C E N T R A C I O N ( X )							
	(Y)	Repet.	Conc. (X)	±s(X)	±L.C.90%	±L.C.95%	
	C.V. (X)	Sxx	Syy	Sxy	Descrip.		
		3.6875	3428.9097	112.229167			

LD (90%)= 4ppm      Linealidad= 4.4%



**Fig. 12 Regresión Lineal**

## Metodología final:

A continuación aparece la metodología final utilizando los datos optimizados.

- 1- Se añade en un vaso químico 50 mL de KI 0,1 M, 20 mL de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,25 M, 1 mL de almidón. Colocar el agitador.
- 2- Se sumerge los electrodos generadores de platino en la solución. Se observa el color de la solución. Si no es azul lila, se enciende el culombímetro para generar el yodo hasta que se forme el color.
- 3- Se añade, 5 mL de una disolución de vitamina C de 100 ppm y se enciende el culombímetro, anotando la corriente impuesta inicial y tomando el tiempo con el cronómetro.

- 4- Se detiene el cronómetro y el culombímetro una vez que se haya formado nuevamente el color lila débilmente. Anotar la corriente final y el tiempo transcurrido en segundos.
- 5- Se multiplica el tiempo por el promedio de la corriente en mA para obtener los miliculombios consumidos.
- 6- Se repite el procedimiento con 5 mL de jugo para diferentes jugos comerciales.

#### 4.6 Aplicación del método en jugos de naranja comerciales

En la tabla 29 se observan los resultados de la aplicación del método culombimétrico desarrollado en el análisis de Vitamina C en las dos marcas de jugos comerciales más utilizados en Panamá. La misma fueron colectadas en la región metropolitana acorde a la sección de Toma de Muestras. La Marca A fue analizada cuatro veces y la marca B por triplicado. La marca A sobrepasó el valor reportado en su etiqueta en un 40 % mientras que la marca B quedó dentro del  $100 \pm 10 \%$ .

**Tabla 29 Resultados de los análisis de jugos comerciales.**

Marca	mg Promedio Obtenido	Valor reportado	Error
Marca A N=4	126	90	+ 40 %
Marca B N=3	19,4	18	+ 7.8 %

## Conclusiones

- ✓ Se desarrolló un método coulombimétrico modular de bajo costo, el cual fue validado en precisión y cantidad de muestra de analito.
- ✓ La precisión varía con la cantidad de muestra analizada, siendo la cantidad óptima de 5 mL de 100 ppm Vit C obteniéndose una precisión de 3,1 % de CV a concentración constante y un CV de 4,4 % de la pendiente como precisión de la regresión de la curva de calibración. El límite de detección estimado al 90 % fue de 4 ppm.
- ✓ El método desarrollado se aplicó a dos Marcas® de jugos comerciales de naranja. Una marca demostró tener una mayor cantidad de vitamina C que la mostrada en el envase y la otra cumplió dentro del  $100 \pm 10 \%$ .



## Referencias bibliográficas

1. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions. *Faseb J.* 1999;13 (9): 1007 -1024
2. Day, R. y Underwood, A. 1989. *Química Analítica Cuantitativa*. 5ta ed. México: Prentice-Hall Hispanoamérica, S. A.
3. De Ford, Donald D. 1960. *Eletroanalysis and Coulometric Analysis*. Analytical Chemistry cap 32.
4. England S. Seifter S. The biochemical functions of ascorbic acid. *Annu Rev Nutr.* 1986; 6: 365-406.
5. Hendler SS, Rovik DM PDR for Nutritional Supplements. 2<sup>nd</sup> ed. Montvale: Thomson Reuters: 2008.
6. <https://www.clubensayos.com/Ciencia/DETERMINACION-DEL-CONTENIDO-DE-ACIDO-ASCORBICO-POR-MICROTITULACION/3871560.html>.
7. [https://lpi.org/state.edu/es/mic/vitaminas/vitamina- C](https://lpi.org/state.edu/es/mic/vitaminas/vitamina-C)
8. Riordan HD, Casciari JJ, González MJ, et al. A pilot study of continuous intravenous ascorbate in terminal cancer patient. *P R Health Sci J.* 2005; 24 (4): 269-276. *Pub Med*.
9. Skoog, D., Holler, F. y Crouch, S. 2008. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta ed. México: Cengage Learning Editores
10. Skoog, D., West, D., Holler, F. y Crouch, S. 2005. *Fundamentos de Química Analítica*. 8va ed. México: International Thompson Editores, S. A. 597.
11. Taylor EN, Stampfer MJ, Curhan GC. Dietary factors and the risk of incident kidney stones in men: new insights after 14 years of follow-up. *Jam Soc Nephrol.* 2004; 15 (12): 3225-3232.
12. Weber SG. Electroquímica. En *Química Clínica. Técnicas de laboratorio-Fisiopatología – Métodos de Análisis*. Editorial Medica Panamericana 1992. Capítulo 13, PP. 279-292.

## Bibliografía

- *Ciancaglini P et al. Using a Classical Method of vitamin c quantification as a tool for discussion of its role in the body. Biochem. mol. biol. Edu. 29: 110-114, 2001.*
- *Fundamentos De Química Analítica Douglas A. Skoog, Donald M. West, Cengage Learning Editorial, 9ª ed., 2015*
- *Harris dc. Análisis Químico Cuantitativo. Editorial reverté, 2001.*
- *<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjd7MGO8uzkAhXP1FkKHQioBwcQFjAAegQIAhAC&url=http%3A%2F%2Fwww3.uah.es%2Fmapa%2Fmayores%2Fpracticas%2Factivos%2FCuantificacion%2520de%2520Vitamina%2520C.doc&usg=AOvVaw3LVZEJIIFZ1vpamfPgST1o>*
- *Levine M, Wang y, Padayatty is new recommended dietary allowance of vitamin c.*
- *Ley 45 del 31 de octubre del 2007. artículo 36, Obligaciones del Proveedor.*
- *Skogg, D., Holler, F. y Crouch, S. Principios de Análisis Instrumental. 7a ed. española: Mcgraw-Hill/Interamericana de España. S.AU.*
- *Vitamina c- Dr. Steve Hickey y Dr. Andre W. Saul.*
- *Vitamina C- Misil Sanador De La Naturaleza – Dr. Glendettman, Frederick Todd Melbourne.*
- *Willard, H., Merrit, L., Dean, J. y Settle. Métodos Instrumentales de Análisis 7a ed. México: Grupo Editorial Iberoamérica.*