

CATEDRA DE ANALISIS QUIMICO, BROMATOLOGIA Y TOXICOLOGIA

Prof. Dr. R. GARCIA VILLANOVA

VALORACION ESPECTROFOTOMETRICA DE VITAMINAS B₁, B₆ y C CON N-BROMOSUCCINIMIDA

por

F. BOSCH SERRAT

Ars. Pharm, XI, 267 (1970).

RESUMEN

Las experiencias realizadas con diversas vitaminas y la n-bromosuccinimida nos permiten aconsejar el uso de este reactivo para la valoración de vitaminas C, B₁ y B₆ siempre que sea posible llevarla a cabo en un medio con elevado porcentaje de alcohol metílico.

Las coloraciones obtenidas con el ácido ascórbico, dicloruro de tiamina y clorhidrato de piridoxina siguen la ley de Beer con bastante exactitud entre los límites 0,2-2 mg; 0,2-2 mg y 0,1-1 mg respectivamente, practicando la lectura de la densidad óptica a 370-380 m μ .

En este trabajo se incluyen técnicas para la valoración de las citadas vitaminas en medicamentos, y se enumeran las interferencias más importantes que presenta el método.

INTRODUCCION

La n-bromosuccinimida ha sido propuesta como reactivo para la valoración de diversas sustancias como hidrácidas, derivados alílicos y algunos metales, más recientemente se propone para la valoración titrimétrica de tiourea y tioacetamida y en un trabajo publicado hace poco tiempo se propone el uso de esta sustancia para la determinación de cafeína, piramidón, fenacetina y antipirina (1), anticipando en esta anterior publicación que también daban la reacción algunas vitaminas.

En 1955 Barkat Abd.-El-Wahab y El-Sadr dan a conocer un método volumétrico para la valoración de vitamina C con n-bromosuccinimida como reactivo oxidante y KI-almidón para indicar el punto final (2).

No hemos encontrado sin embargo referencia alguna sobre la valoración espectrofotométrica de vitaminas con n-bromosuccinimida. Los ensayos realizados demuestran que la colorimetría es especialmente útil para algunas vitaminas hidrosolubles, originándose en todos los casos de reacción positiva una coloración amarilla muy estable.

Las peculiaridades de la disolución de n-bromosuccinimida y las ventajas e inconvenientes de la valoración en medio metílico fueron discutidas en nuestra anterior publicación.

PARTE EXPERIMENTAL

1. MATERIAL.—Espectrofotómetro "Spectronic 20"

2. REACTIVOS

Disolución de n-bromosuccinimida.—Se pesa 0,25 g. del producto puro en un granatario y se disuelve en 50 ml. de metanol. Debe prepararse extemporáneamente.

Disolución de ácido sulfúrico 10N.

Alcohol metílico R. A.

Disolución de vitamina C: Se pesa 0,1.000 g de ácido ascórbico R.A. y se disuelve y completa con metanol a 100 ml.

Disolución patrón de vitamina B₁: Se pesa 0,1.000 g de dicloruro de tiamina Merck LAB se disuelve en metanol y se completa a 100 ml.

Disolución patrón de vitamina B₆: Se pesa 0,0500 g. de clorhidrato de piridoxina Merck LAB y se disuelve y completa a 100 ml con alcohol metílico.

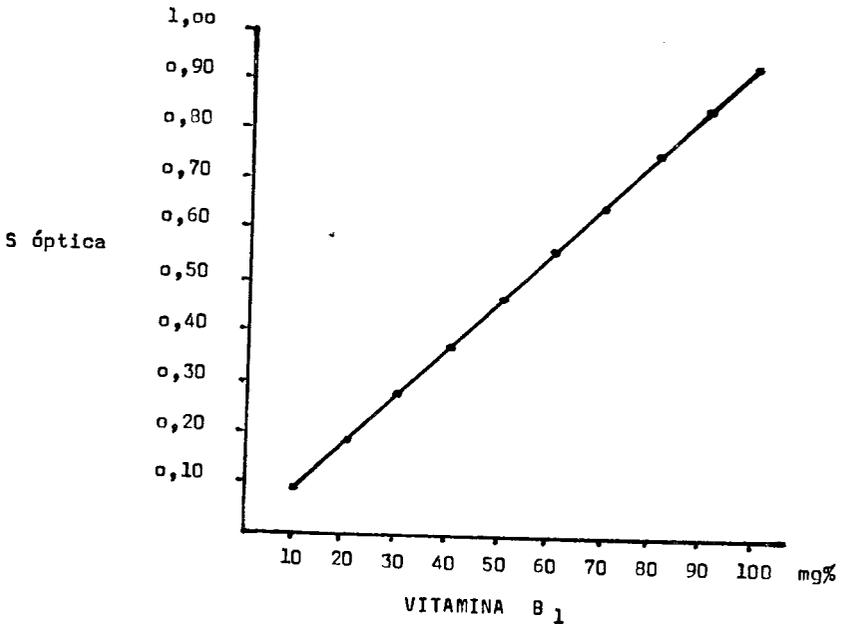
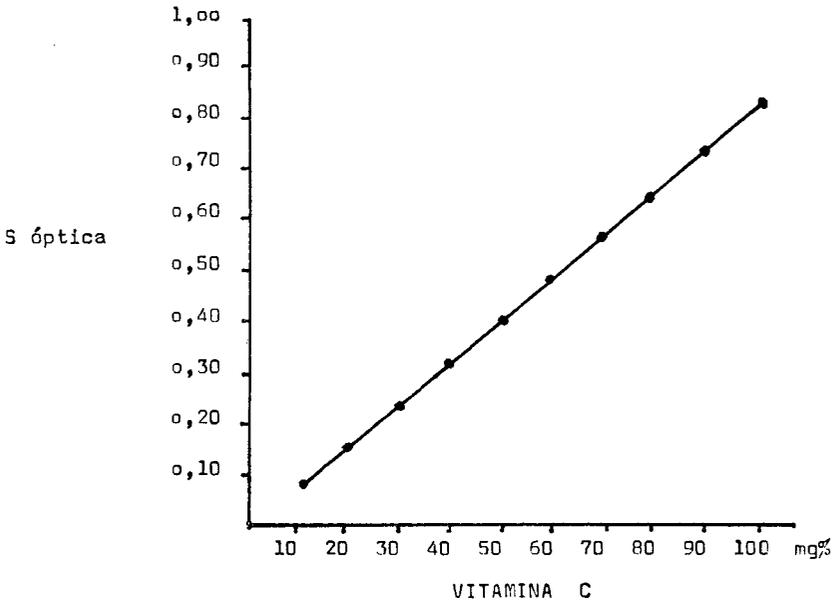
3. COMPROBACION DE LA LEY DE BEER.

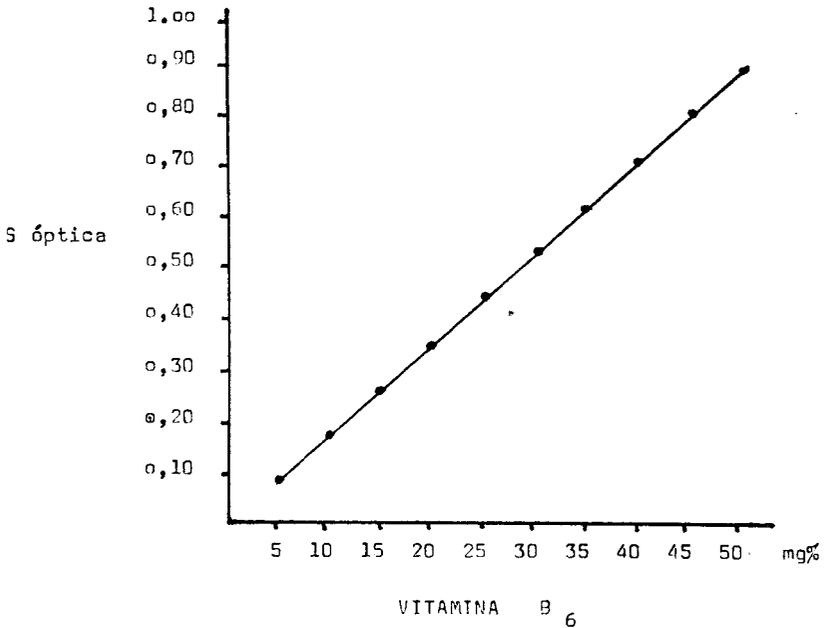
Las gráficas que a continuación se incluyen corresponden a las lecturas efectuadas a 380 m μ sobre las disoluciones de la escala patrón respectiva, que se preparó colocando 0-0, 2-0, 4-0, 6-0, 8-1, 0-1, 2-1, 4-1, 6-1, 8-2, 0 ml. de la disolución patrón de la vitamina correspondiente. Completando a 2 ml. con metanol. Y a continuación se añadió 2 ml de la disolución de n-bromosuccinimida y seguidamente 0,2 ml de la disolución 10 N de ácido sulfúrico.

Al cabo de 20 minutos o de una hora en el caso de la vitamina B₆ se efectúa la lectura de las densidades ópticas, empleando como blanco el primer tubo de la escala.

4. ESTABILIDAD DE LA DISOLUCION PATRON

Para comprobar la estabilidad de los patrones se toman 4 tubos en los que se coloca 1 ml de la disolución correspondiente, se completa a 2 ml con metanol, se agrega 2 ml del reactivo de n-bromosuccinimida y 0,2 ml de ácido sulfúrico 10N. La lectura se efectúa a los 30 minutos de haber agregado los reactivos, incluso para la vitamina B₆.





Vitamina C (lectura a 380 m μ)

Tiempo transcurrido desde la preparación	Tubo I	Tubo II	Tubo III	Tubo IV
1 hora	0,370	0,368	0,372	0,368
1 día	0,368	0,366	0,370	0,374
2 días	0,368	0,366	0,370	0,375
7 días	0,365	0,368	0,370	0,368
10 días	0,360	0,362	0,365	0,365
14 días	0,340	0,350	0,345	0,345

Vitamina B₁ (lectura a 380 m μ)

Tiempo transcurrido desde la preparación	Tubo I	Tubo II	Tubo III	Tubo IV
1 hora	0,45	0,44	0,45	0,44
1 día	0,46	0,45	0,45	0,45
2 días	0,44	0,44	0,46	0,44
7 días	0,45	0,46	0,46	0,45
10 días	0,46	0,45	0,45	0,45
14 días	0,43	0,43	0,44	0,44

Vitamina B₆ (lectura a 380 m μ)

Tiempo transcurrido desde la preparación	Tubo I	Tubo II	Tubo III	Tubo IV
1 hora	0,61	0,61	0,60	0,62
1 día	0,60	0,62	0,59	0,62
2 días	0,60	0,62	0,62	0,60
7 días	0,62	0,61	0,61	0,61
10 días	0,61	0,62	0,61	0,60
14 días	0,61	0,60	0,60	0,60

5. TECNICAS.

I.—*Valoración de vitamina C en comprimidos.*

Se pesan 2 o más comprimidos en una balanza de precisión se pulverizan en un mortero y del polvo se pesa una cantidad que contenga de 40 a 80 mg de ácido ascórbico. Se colocan en un vaso de precipitado y se le añade 40 ml de metanol, se agita en frío durante 5-10 minutos. Se filtra si es necesario, y se lava y se completa a 100 ml con metanol.

A 2 ml de esta disolución se le añade 2 ml de reactivo de n-bromosuccinimida y 0,2 ml de ácido sulfúrico 10 N, paralelamente se prepara una escala patrón y se hace la lectura del contenido de los tubos a los 20 minutos a 370-380 m μ .

II.—*Valoración de vitamina C en inyectables.*

Se mide exactamente 1 ml. de la disolución inyectable y se completa en un matraz aforado a un volumen adecuado para que la disolución contenga de 4 a 8 mg de ácido ascórbico por 100 ml.

Después se prosigue como se explica en el apartado 1.

III.—*Valoración de vitamina B₁ en comprimidos e inyectables.*

Se pueden utilizar técnicas idénticas a las descritas para la vitamina C.

IV.—*Valoración de vitamina B₆ en comprimidos e inyectables.*

Se pueden aplicar las mismas técnicas que para las vitaminas C y B₁ con la salvedad de utilizar concentraciones de clorhidrato de pirodoxina de 2 a 4 mg y efectuar la lectura a la hora, ya que la reacción se verifica con más lentitud que en los casos anteriores.

CONCLUSIONES

1. El método posee una muy buena exactitud y reproducibilidad siempre que se opere con material seco.

2. Las disoluciones patrón de vitaminas B₁ y B₆ se conservan prácticamente inalterables por lo menos durante dos semanas, para la vitamina C se observa una ligera alteración a partir de los diez días de su preparación.

3. El método sirve para la valoración de cantidades de vitaminas C y B₁ comprendidas entre 200 γ y 2.000 γ y de vitamina B₆ entre 100 y 1.000 γ .

4. No interfieren vitamina PP, colessterina, las sustancias habitualmente utilizadas como excipientes y las citadas en nuestro anterior trabajo.

5. Interfieren por reaccionar de forma similar las vitaminas B₁₂ y menadiona bisulfito sódico. También por su intenso color las vitaminas A y B₂.

6. La reacción puede utilizarse con excelentes resultados para la valoración de vitamina C, B₁ y B₆ en medicamentos que contengan una sola de estas sustancias.

BIBLIOGRAFIA

(1) F. BOSCH SERRAT. *Ars. Pharm.* X, 421 (1969).

(2) M. ZAKI, M. FATHY ABD-EL-WAHAB y M. MAHMOUD EL-SADR. *Anal. Chem.* 27 536-40 (1955).