



Cuantificación de **calcio en muestras de** **queso casero**

Nombre: Luca Morales

Grupo: 3^{ro} BG Química

Docentes: Raúl Britos, Anarella

Gatto, Natalia Boscana, Pamela

Brum, Ángel Cuenca, Francisco

Tejera

Resumen:

En este proyecto se buscó determinar la concentración de calcio mediante dos métodos diferentes, en muestras de queso elaborado mediante un procedimiento casero. La pregunta investigable que se buscó contestar: ¿Cuál es la concentración de calcio en muestras de queso casero según se emplee una complejometría o una gravimetría para su determinación?. La metodología seleccionada para la determinación de calcio fue complejometría y gravimetría. Mediante el método de complejometría se obtuvieron valores promedio de $(1,0251 \pm 0,0102)$ % m/m y valores promedio de $(0,7077 \pm 0,007)$ % m/m por gravimetría, valores acorde a la bibliografía consultado.

Palabras clave:

Queso, calcio, complejometría, permanganometría, gravimetría.

Introducción:

- Objetivo: Determinar por complejometría y gravimetría la cantidad de calcio en muestras de queso.

Pregunta investigable:

- ¿Cuál es la concentración de calcio en muestras de queso casero según se emplee una complejometría o una gravimetría para su determinación?

Marco Teórico:

El calcio es el catión más abundante en el organismo y, aunque prácticamente la totalidad del calcio corporal total (98 %) se encuentra depositado en el tejido óseo, la pequeña fracción libre presente en los líquidos corporales desempeña un papel biológico muy importante como cofactor enzimático en un gran número de procesos biológicos y actividades hormonales imprescindibles para mantener la integridad del organismo. En el plasma, el calcio está presente de tres formas (libre o ionizado, unido a proteínas plasmáticas o formando complejos de unión con el citrato y fosfato) que se mantienen en equilibrio dinámico. El calcio ionizado que aproximadamente representa el 40-50 % de la calcemia total es la fracción biológicamente activa. Dado que casi el 45 % del calcio sanguíneo circula unido a proteínas plasmáticas, principalmente a la albúmina (80 %), los cambios en la concentración de la albúmina determinan variaciones notables en la concentración del calcio sérico total, sin que por este motivo se produzcan cambios significativos en la concentración del calcio ionizado plasmático. Por el contrario, las variaciones del pH sanguíneo influyen de forma muy directa en sus concentraciones ya que modifica el porcentaje del calcio unido a las proteínas plasmáticas; los estados de acidosis lo incrementan, mientras que la alcalosis lo disminuye.

El mantenimiento de la homeostasis del calcio depende de la actividad de la hormona paratiroidea o paratohormona (PTH) y de la vitamina D que, de forma coordinada y precisa, regulan la absorción intestinal de calcio, la liberación de calcio del esqueleto y la conservación renal del mineral.

Las concentraciones normales de calcio sérico en el recién nacido oscilan entre 7,6 mg/dL y 10,5 mg/dL. Durante la infancia, los valores normales del calcio sérico total son discretamente más elevados que los valores correspondientes a un individuo adulto. La concentración plasmática normal de calcio está comprendida entre 8,5 y 10,4 mg/dL y prácticamente no varía con la edad durante la infancia y la adolescencia. Las concentraciones normales de calcio iónico se sitúan entre 4,4 y 5,2 mg/dL (1,1- 1,3 mol/L). (Davies, 2015)

Actualmente se ha incrementado el interés por consumir alimentos que nutran y además mejoren las condiciones de salud. Los alimentos adicionados con calcio se encuentran en este grupo, ya que varios estudios coinciden en afirmar que su consumo mejora la salud de los huesos. El cuerpo no produce minerales y su presencia en el organismo depende exclusivamente del consumo en la dieta; por tal razón, una dieta variada que contenga fuentes de calcio como la leche y los productos lácteos aseguran el aporte de éste para una buena salud. Sin embargo, en muchos países se ha observado que el consumo de calcio y otros minerales decrece gradualmente. Con el fin de mejorar la ingesta de calcio de los consumidores, se ha incrementado el desarrollo de alimentos fortificados.

Los minerales son sustancias orgánicas requeridas por el cuerpo para una variedad de funciones. En el hombre los minerales se encuentran entre el 4 – 15 % de su masa corporal. El 50 % corresponde a calcio, el 25 % a fósforo y la otra parte corresponde a minerales como magnesio, sodio, potasio y cobre, entre otros. El 98 % del calcio que tiene nuestro organismo se encuentra haciendo parte de los huesos, el 0,5 % de los dientes y el resto se encuentra en circulación sanguínea y puede estar ligado a proteínas, en forma iónica o formando complejos con ácidos. El calcio específicamente tiene las siguientes funciones: constitución de fluidos y tejidos, regulación cardíaca, componente de los sistemas enzimáticos, conducción nerviosa, proliferación celular, estimulante de la secreción hormonal, contracción muscular, coagulación sanguínea y, la más importante, el mantenimiento de la estructura y calidad de la masa ósea. Hay evidencias científicas de beneficios adicionales del calcio en la prevención de cáncer colorrectal, la regulación de presión sanguínea y la concentración de lípidos en el suero.

El calcio es considerado un macromineral, ya que necesitamos consumir más de 100 mg/día. La concentración normal de calcio en la sangre es de 10 mg/dL con un rango entre 8,8 y 10,6 mg/dL. Los cambios en esta concentración pueden estar relacionados con alguna patología existente y no necesariamente con su bajo o alto consumo. Por ejemplo, la hipercalcemia puede presentarse en el hipoparatiroidismo, la hipomagnesemia o en la pancreatitis aguda.

La formación del hueso está relacionada con la estimulación de osteoclastos y osteoblastos que son el tejido activo para la formación de éstos y depende de factores endocrinológicos y nutricionales en los que intervienen la paratohormona (PTH) y la vitamina D, estimulando la resorción de calcio en el hueso cuando su concentración en sangre es baja. La PTH estimula la actividad de la enzima 1α -hidroxilasa, la cual interviene en la conversión de vitamina 25-hidroxi D3 inactiva a su forma activa 1,25- hidroxil vitamina D3. Esta última incrementa la absorción renal e intestinal del calcio, mediante la estimulación de la acción de proteínas relacionadas con el transporte de éste. La calcitonina tiene un efecto contrario, inhibiendo la resorción de calcio en hueso y disminuyendo el número de osteoclastos.

El calcio es excretado diariamente a través del pelo, las uñas, la saliva, la orina y las heces, y en menor cantidad en el sudor, el semen, la menstruación y la leche.

La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica con disminución de la masa o densidad ósea, deterioro microarquitectónico del tejido óseo cortical y, sobre todo, trabecular, que aumenta la fragilidad del hueso y consecuentemente el riesgo de fracturas. Es un problema de salud pública que se ha incrementado progresivamente en los últimos años y tiene amplia incidencia en el ámbito mundial; se presenta con mayor frecuencia en mujeres que en hombres, especialmente en mujeres premenopáusicas. La osteoporosis causa discapacidad y deterioro de la calidad de vida. Además, genera altos costos para los sistemas de salud por el incremento de fracturas que se asocian con una mayor mortalidad, invalidez y pérdidas económicas por la atención médica multidisciplinaria requerida por los pacientes. La mortalidad posfractura es de 3 - 4 % a los 50 años de edad, y de 28 - 30 % a los 80 años. El rompimiento de los huesos ocurre porque el cuerpo debe utilizar el calcio almacenado en éstos para mantener las otras funciones biológicas normales, generalmente, cuando hay insuficiente ingesta de calcio. Para afrontar este problema de salud pública es preciso establecer estrategias para su prevención; algunas medidas preventivas son: aumentar el calcio en la dieta, promover los hábitos de ejercicio físico y evitar el tabaquismo. (Valencia, Román & Cardona, 2010)

Definiciones para queso

Con el nombre genérico de queso se entiende el producto fresco o madurado que se obtiene por separación parcial del suero de leche o de leche reconstituida (entera, parcial o totalmente descremada), o de sueros lácteos, coagulados por la acción física del cuajo, de enzimas específicas, de bacterias específicas, de ácidos orgánicos, solos o combinados, todos de calidad apta para uso alimentario.

- Queso fresco. Es el queso que se encuentra listo para su consumo poco después de su fabricación.
- Queso madurado. Es el queso que ha experimentado los cambios bioquímicos y físicos necesarios y característicos de cada tipo de queso.
- Queso artesanal. Es el queso elaborado en condiciones artesanales, en forma individual, familiar o asociativa, exceptuando la producción masiva que implique instalaciones y procesos industriales.

Disposiciones generales para queso

Todos los quesos contendrán como ingredientes leche y/o leche reconstituída (entera, semidescremada o descremada y/o suero lácteo), la que puede provenir de las especies bovina, caprina, ovina o bufalina, y el coagulante apropiado de naturaleza física, química, bacteriana y/o enzimática.

Podrán contener además como ingredientes complementarios, cultivo de bacterias lácticas u otros microorganismos específicos, sal, cloruro de calcio, caseína, caseinatos, sólidos de origen lácteo, especias, condimentos y otros ingredientes que se correspondan a cada variedad de queso, además de los aditivos que se indican en la lista positiva correspondiente y los aromatizantes y colorantes que se autoricen para tipos específicos de queso.

La leche a ser utilizada en la elaboración de quesos deberá ser higienizada por medios mecánicos adecuados y sometida a pasteurización, o tratamiento térmico combinado con otros procesos físicos, químicos o biológicos que garanticen la inocuidad del producto.

Queda excluida de la obligación de ser sometida a pasteurización o tratamiento térmico, la leche higienizada que se destine a la elaboración de quesos que se sometan a un proceso de maduración a una temperatura superior a los 5 °C durante un lapso no menor de 60 días. (Reglamento Bromatológico Nacional, 1994)

Fermentación láctica:

La fermentación láctica es un proceso celular anaeróbico donde se utiliza glucosa para obtener energía y donde el producto de desecho es el ácido láctico. Este proceso lo realizan muchas bacterias (llamadas bacterias lácticas), hongos, algunos protozoos y en los tejidos animales. En efecto, la fermentación láctica también se verifica en el tejido muscular cuando, a causa de una intensa actividad motora, no se produce una aportación adecuada de dióxígeno que permita el desarrollo de la respiración aeróbica. Cuando el ácido láctico se acumula en las células musculares produce síntomas asociados con la fatiga muscular. Algunas células, como los eritrocitos, carecen de mitocondrias de manera que se ven obligadas a obtener energía por medio de la fermentación láctica; por contra, las neuronas mueren rápidamente ya que no fermentan, y su única fuente de energía es la respiración.

En condiciones de ausencia de dióxígeno (anaerobias), la fermentación responde a la necesidad de la célula de generar la molécula de NAD^+ , que ha sido consumida en el proceso energético de la glucólisis. En la glucólisis la célula transforma y oxida la glucosa en un compuesto de tres átomos de carbono, el ácido pirúvico, obteniendo dos moléculas de ATP; sin embargo, en este proceso se emplean dos moléculas de NAD^+ que actúan como aceptores de electrones y se reducen a NADH .

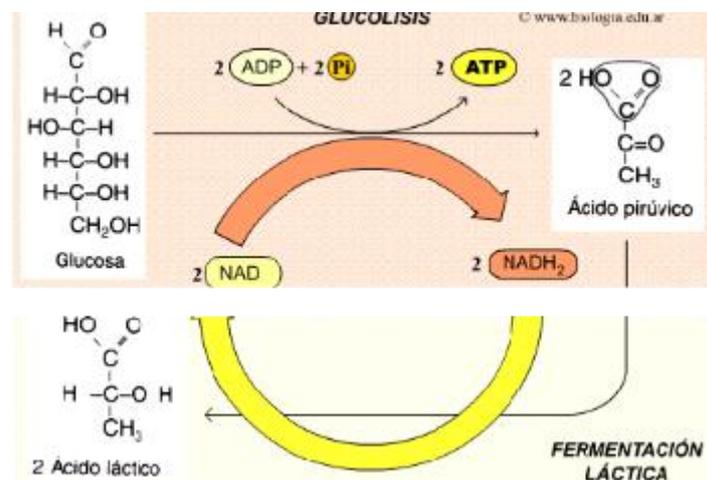
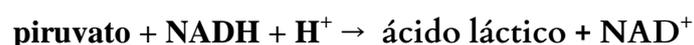


Figura 1

Para que puedan tener lugar las reacciones de la glucólisis productoras de energía es necesario reoxidar el NADH ; esto se consigue mediante la cesión de dos electrones del NADH al ácido pirúvico, que se reduce a ácido láctico.



Un ejemplo de este tipo de fermentación es la acidificación de la leche. Ciertas bacterias (*Lactobacillus*, *Streptococcus*), al desarrollarse en la leche utilizan la lactosa (azúcar de leche) como fuente de energía. La lactosa, al fermentar, produce energía que es aprovechada por las bacterias y el ácido láctico es eliminado. La coagulación de la leche (cuajada) resulta de la precipitación de las proteínas de la leche, y ocurre por el descenso de pH debido a la presencia de ácido láctico. Este proceso es la base para la obtención del queso. El ácido láctico, dado que otorga acidez al medio, tiene excelentes propiedades conservantes de los alimentos. (La Anuciata Ikerketa, 2013)

Titulación volumétrica por formación de complejos

Las titulaciones volumétricas por formación de complejos se basan en la formación de un complejo soluble entre un ion metálico y un agente complejante o quelante. En estas valoraciones, el titulante es una solución compuesta por un agente complejante, y el ion metálico es la especie a valorar. Los agentes complejantes o quelantes son compuestos orgánicos con grupos dadores de electrones que pueden ser monodentados o multidentados. Los ligandos monodentados forman complejos poco estables, pasando por dos o más especies intermediarias, con puntos finales poco definidos o poco precisos. Cuando se utilizan ligandos multidentados, la reacción con el ion metálico es completa y rápida, en una sola etapa, formando un complejo estable, lo que asegura la cuantitatividad de la reacción. Al utilizar este tipo de titulante, las reacciones con los analitos se producen siempre mol a mol y se obtienen puntos finales bien definidos. Las reacciones de formación de complejos son no selectivas; es decir, el ligando reaccionará con todos los metales polivalentes que estén en solución. Sin embargo, las condiciones de pH del medio brindan cierta selectividad a la valoración, a través del proceso de precipitación fraccionada. Los indicadores utilizados en estas titulaciones son ligandos capaces de unirse a los metales formando un complejo más débil que el formado por el titulante y el metal. El titulante irá desplazando al indicador del complejo formado con el metal, hasta que se encuentre en su estado libre. Estos indicadores presentan coloración diferente cuando están en su estado libre o complejado con el metal, lo que permite detectar el punto final de la titulación.

ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA, simbolizado como H_4Y), es el un ligando multidentado y es el titulante complejométrico más utilizado en las valoraciones por formación de complejos. La forma ácida del EDTA libre presenta la siguiente estructura:

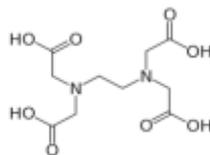


Figura 2

Como puede observarse, presenta 4 grupos dadores de H^+ , lo que lo hace una especie dependiente de pH. Su acción como complejante se obtiene a valores de pH que garanticen la presencia de la especie Y^{4-} , que es capaz de formar un complejo estable con el catión. El complejo formado entre el Y^{4-} y el catión puede representarse con la siguiente estructura:

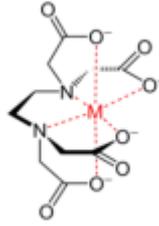
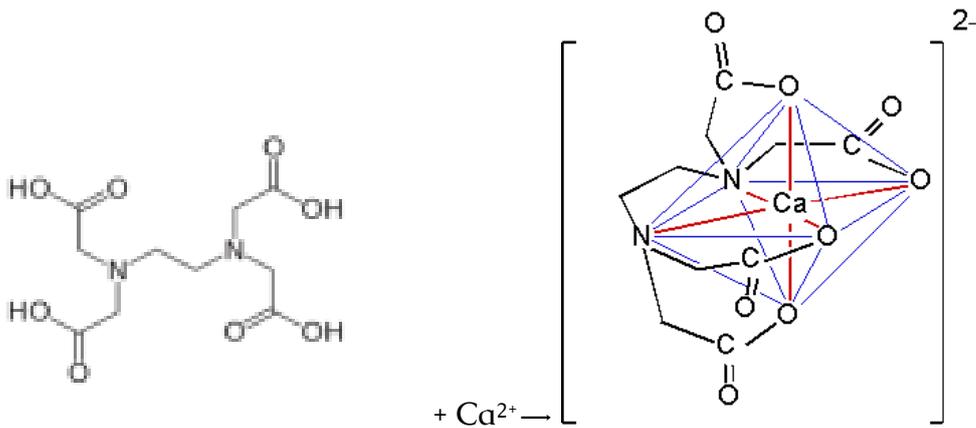
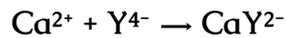


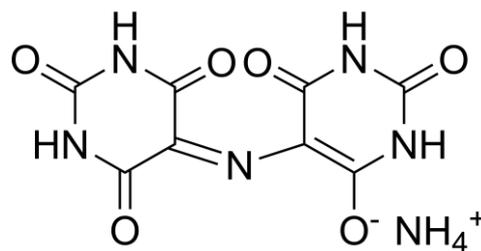
Figura 3

A pH elevados la especie predominante del EDTA es la desprotonada Y^{4-} . Es muy importante que el pH no sea muy elevado (mayor a 10) ya que se produciría la precipitación de hidróxidos metálicos de los cationes a determinar. Sin embargo, la precipitación fraccionada mediada por pH es utilizada para la determinación selectiva de ciertos metales; por ejemplo, la determinación de calcio y magnesio individualmente. Para la preparación de soluciones titulantes, es posible adquirir el ácido libre H_4Y como patrón primario. Sin embargo, es más común y más económica la adquisición de la sal disódica dihidratada de EDTA, $Na_2H_2Y \cdot 2H_2O$, de grado reactivo. Este producto se utiliza para la preparación de una SPS, cuya concentración exacta se determina por valoración por formación de complejos con una SPP de carbonato de calcio ($CaCO_3$) o sulfato de magnesio ($MgSO_4$). (Química Analítica I, FBCB, UNL, 2019)

Ecuación de la reacción EDTA y el catión calcio Ca^{2+} :



Fórmula de la Murexida



Figuras 4, 5 y 6

(Moreno, 2016)

Punto final de la valoración. Indicadores metalocrómicos:

Entre los indicadores de iones metálicos (metalocrómicos) que se pueden utilizar en la determinación de la dureza del agua con una detección visual del punto final de la valoración están el negro de eriocromo T en la determinación de la dureza total y la murexida en la determinación de la dureza cálcica. Estos indicadores son colorantes orgánicos que forman con el metal un complejo de color diferente al del indicador libre, no complejo. El complejo indicador-metal se forma dentro de un intervalo característico de pM, pero, además, hay que tener en cuenta que estos indicadores son también indicadores ácido-base, por lo que en cada caso se deben tener en cuenta tanto los equilibrios de formación del complejo indicador-metal como los equilibrios ácido-base del indicador.

El negro de eriocromo T (EBT) es un compuesto perteneciente al grupo de los colorantes del negro de eriocromo (o,o'-dioxi-azonaftalinas). Tiene la constitución que se muestra a continuación:

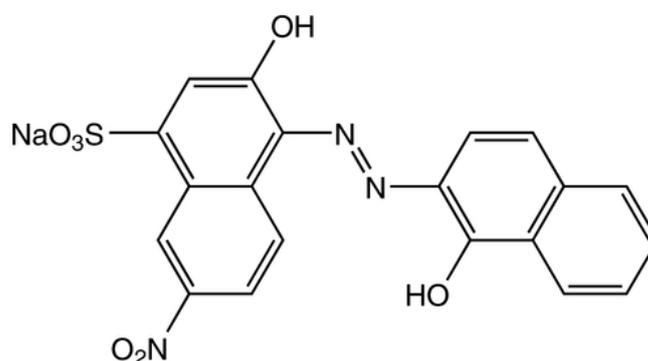
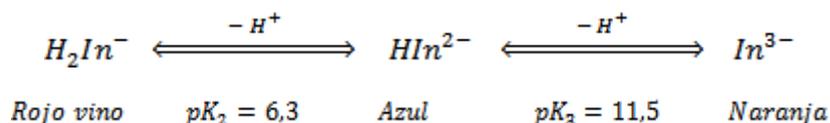
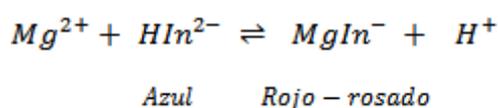


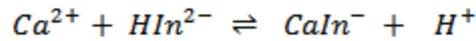
Figura 7

Desde el punto de vista ácido-base, el EBT se puede considerar que tiene dos hidrógenos ácidos en los grupos hidroxilo (el protón del grupo sulfónico es fuertemente ácido por lo que ya está separado a pH 10). Por tanto, el comportamiento ácido-base se puede esquematizar de la forma siguiente:

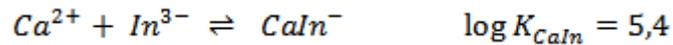
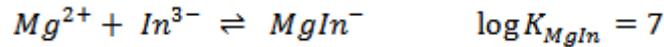


Donde In representa la molécula de indicador excepto los hidrógenos de los grupos hidroxilo. Una solución que solo contenga el indicador a pH 10 es azul, sin embargo, si en el medio hay iones calcio o magnesio, el EBT forma los siguientes complejos:





Al igual que ocurre con los complejos metal-EDTA, las constante de formación de los complejos metal-Indicador suelen estar tabuladas para reacciones con el último anión del indicador. En el caso del EBT:



En el caso de la determinación de Ca^{2+} a pH 12, se utiliza murexida como indicador. La murexida, conocida también como purpurato de amonio tiene la constitución que se muestra a continuación:

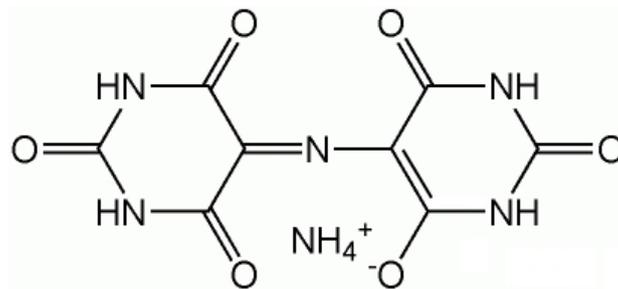
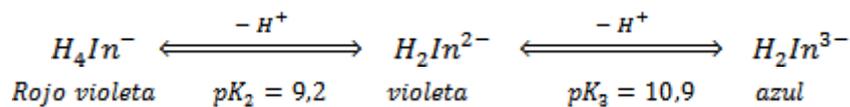


Figura 8

Si procedemos de forma análoga a como se ha hecho con el EBT, la murexida se puede considerar, a pH 12, como un ácido bibásico cuyo comportamiento se puede esquematizar como sigue:



A partir de pH 12 la forma predominante del indicador es H_2In^{3-} (azul), pero con el Ca^{2+} el indicador forma un complejo (de color rosáceo). La constante de formación condicional del complejo a pH 12 tiene un valor, según Rinbgom,

$$K'_{CaH_2In^{-}} = \frac{[CaH_2In^{-}]}{[Ca^{2+}][In^{-}]} = 10^5$$

La expresión que permite conocer el intervalo de viraje del indicador, es en este caso,

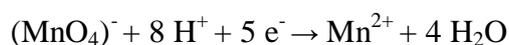
$$pCa = \log K'_{CaH_2In^{-}} - \log \frac{[CaH_2In^{-}]}{[In^{-}]} \quad (\text{Moreno, 2016})$$

Permanganimetría:

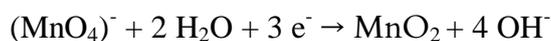
Los permanganatos son las sales del ácido permangánico o permanganésico, de fórmula HMnO_4 .

Las valoraciones redox están basadas en la transferencia cuantitativa de electrones entre un electrolito valorante y la sustancia problema. El método de permanganometría (también conocido como permanganimetría o permanganometría) se basa en las reacciones de oxidación de reductores por el ión permanganato. La oxidación puede efectuarse tanto en medio ácido como en alcalino (o neutro). Las permanganimetrías son valoraciones o volumetrías de oxidación-reducción, es decir, en las que la reacción principal es una reacción en la que una sustancia se oxida y otra se reduce. Las permanganimetrías tienen todas en común que el agente oxidante es el permanganato potásico: KMnO_4 . Las permanganimetrías son valoraciones de agentes que pueden oxidarse con permanganato. Se emplean en valoración de agua oxigenada, nitritos, materia orgánica.

La reacción de reducción del permanganato es:



Si la solución no es suficientemente ácida ($\text{pH} > 4$), neutra o débilmente alcalina la reacción que tiene lugar es:



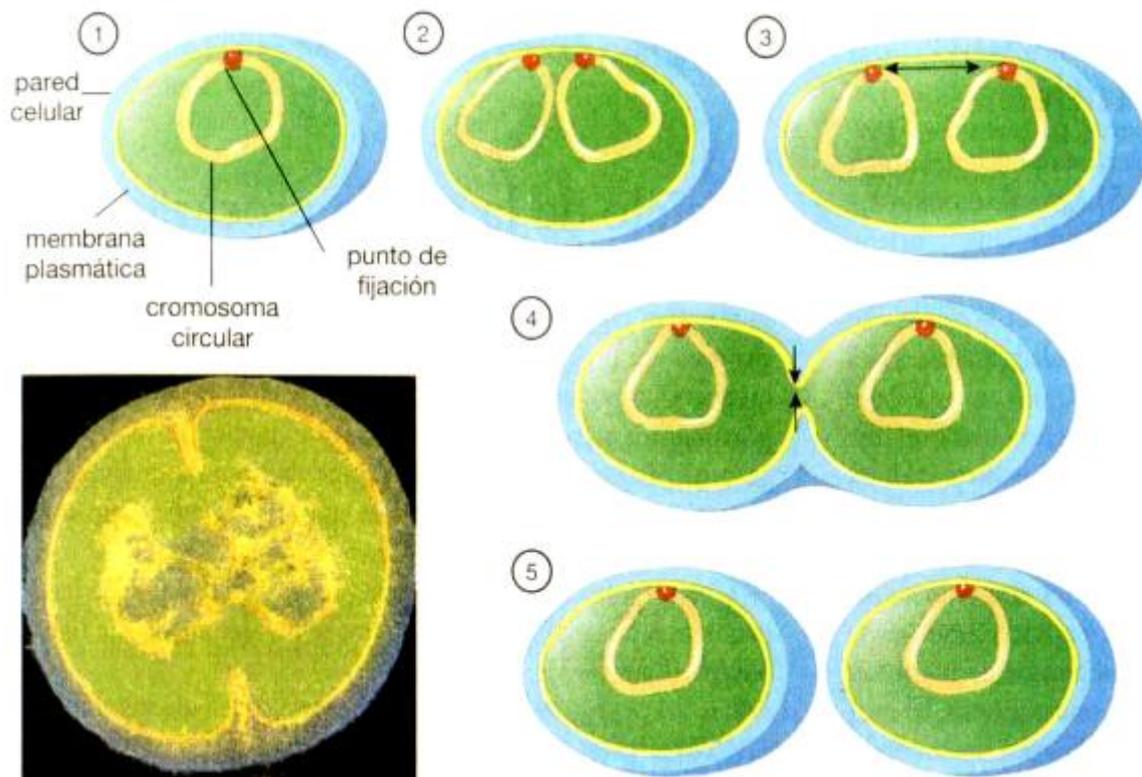
El permanganato es un oxidante muy potente, de un color muy intenso. Esta última propiedad hace que sea posible utilizarlo como autoindicador. El punto final de la valoración se detecta por una aparición de un tono rosáceo en las soluciones. Cuando no se puede utilizar el propio permanganato como indicador (por utilizarse muy diluido) se utiliza el ácido difenilaminoso sulfónico el complejo ortofenantrolina de hierro (II). El principal problema es la tendencia a oxidar el ion cloruro así como la inestabilidad de la solución.

Formado por filtración a vacío. La solución se guarda en un frasco limpio y en la oscuridad. El KMnO_4 no es patrón primario pues, aunque puede obtenerse puro sus soluciones se descomponen en protones parcialmente dando MnO_2 y debe ser valorado frente a un patrón primario como $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$.

Las permanganimetrías se pueden utilizar para valorar gran cantidad de sustancias. Dos ejemplos básicos son: determinación del hierro en un mineral: el fundamento es disolver la muestra de minerales hierro, hacer reaccionar el hierro para garantizar que el estado de oxidación es (II) y valorar el hierro con el permanganato. Otro ejemplo es la determinación de calcio en una piedra caliza: el fundamento consiste en precipitar el calcio del mineral disuelto con ácido oxálico, filtrarlo y disolverlo con ácido sulfúrico diluido. La valoración se realiza sobre el ácido oxálico liberado. En estas valoraciones no es necesario utilizar un indicador para detectar el punto final ya que el mismo KMnO_4 actúa como tal pues en la forma oxidada es de color violeta rojizo e incoloro en la reducida. (Juliaca, 2015)

Crecimiento microbiano:

En un sistema biológico se define al crecimiento como el aumento ordenado de las estructuras y los constituyentes celulares de un organismo. Según ello, el aumento de la masa celular producido por acumulación de productos de reserva (glucógeno, poliβhidroxibutirato) no constituyen crecimiento. Se puede considerar como crecimiento al incremento de células individuales por un lado, y por otro lado se puede considerar al crecimiento del número de células (proliferación de la población). En lo que se refiere al crecimiento de células individuales, este consiste en el aumento del tamaño y peso de las células que precede a la división celular. Esta división trae aparejada un aumento en el número de células (proliferación de la población). Las bacterias se dividen por fisión binaria, a través de la una cual célula madre al alcanzar un determinado volumen se divide dando dos células hijas. El proceso de fisión binaria consiste en la autoduplicación del material hereditario seguido de la repartición en las dos células hijas, las que se separan por estrangulamiento de la membrana celular y formación de la pared celular.



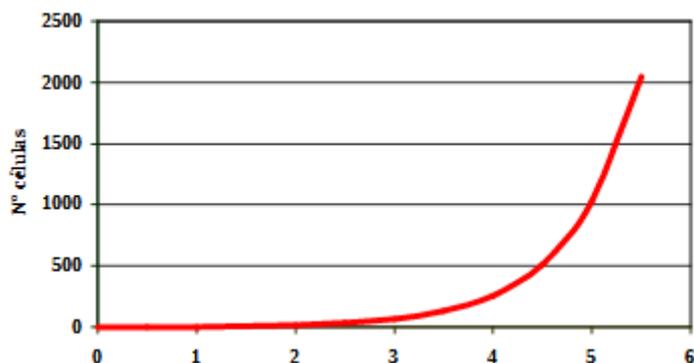
Figuras 9, 10 y 11

Basado en el concepto que una célula se divide dando dos células hijas, y éstas a su vez se vuelven a dividir dando dos células cada una de ellas, se presenta en el siguiente cuadro la proliferación de una población de células a partir de una sola, con un tiempo de generación de 30 minutos

Tabla 1

Tiempo (horas)	Número de células	Log.10 (número de células)
0	1	0
0.5	2	0.301
1	4	0.602
1.5	8	0.903
2	16	1.204
2.5	32	1.505
3	64	1.806
3.5	128	2.107
4	256	2.408
4.5	512	2.709
5	1024	3.010
.	.	.
.	.	.
10	1.048.576	6.021

Al graficar en un sistema de coordenadas el tiempo (abscisas) y el número de células (ordenadas) se obtiene una gráfica como la que se muestra en el siguiente esquema:



Gráfica 1

Es frecuente que a partir de mediciones de crecimiento a intervalos conocidos y graficando estos datos se calcule el tiempo de duplicación de una población. Los tiempos de duplicación varían según el microorganismo del que se trate. Por ejemplo: *Escherichia coli* 0,35 h. *Rhizobium meliloti* 1,8 h, *Nitrobacter sp* aproximadamente 20 h El estudio gráfico del crecimiento es muy útil, pero a veces es conveniente conocer la expresión matemática que representa este crecimiento exponencial

$$\chi = \chi_0 \cdot e^{\mu(t - t_0)}$$

Dónde:

χ : número de células o masa microbiana al tiempo t

χ_0 : número de células o masa microbiana en el momento inicial (t_0)

μ : constante que da idea de la velocidad instantánea del crecimiento

$t-t_0$: tiempo transcurrido entre la medición inicial y la final.

Ciclo normal del crecimiento

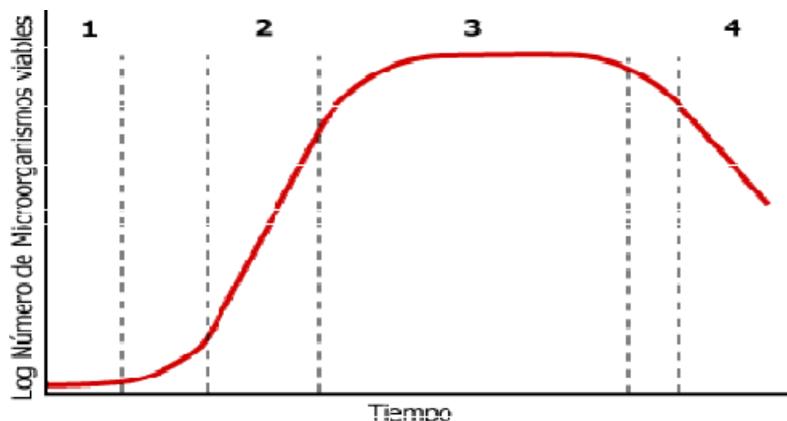
Las poblaciones microbianas raramente mantienen un crecimiento exponencial prolongado. Si ello ocurriera en poco tiempo la tierra estaría tapada de una masa microbiana mayor que la de la tierra misma. El crecimiento está normalmente limitado por el agotamiento de nutrientes o por la acumulación de productos del mismo metabolismo microbiano, que les son tóxicos a la población. La consecuencia es que el crecimiento al cabo de un cierto tiempo llega a disminuir hasta detenerse.

Como se puede observar, en la gráfica se ha relacionado el tiempo transcurrido con el logaritmo del número de células bacterianas. Cuando se realiza este tipo de gráficas se obtiene una línea recta, sin embargo en esta sólo un sector (fase exponencial) corresponde a una recta.

Es posible distinguir cuatro fases:

- fase de latencia o de retardo
- fase exponencial
- fase estacionaria
- fase de muerte

En la fase de latencia existe un aparente reposo en el que las células sintetizan las enzimas necesarias para la actividad metabólica que deben llevar adelante. Cuando se hacen mediciones del número de células en distintos tiempos dentro de esta fase, el valor no cambia sustancialmente. En cambio, interiormente las células trabajan activamente adaptando el equipo enzimático al medio de cultivo. La bacteria se prepara para hacer uso de los nutrientes que este medio le aporta, por lo tanto es la fase de adaptación al medio, con aumento de la masa celular pero no del número de células. La edad del inóculo va a influir en el tiempo de latencia en el medio fresco debido a la acumulación de materiales tóxicos y a la falta de nutrientes esenciales dentro de la célula durante el crecimiento anterior. En general, inóculos viejos alargan la fase de latencia.



Gráfica 2

Pasado este período, el cultivo entra en la denominada fase de crecimiento exponencial, donde la velocidad de crecimiento es máxima. La velocidad de crecimiento que alcanza un cultivo, depende del tipo de microorganismo que se trate y diversos factores ambientales como son la temperatura, el pH, oxigenación, etc. La velocidad de crecimiento comenzará a

disminuir hasta hacerse nula cuando alcance la fase estacionaria, ya que cambios en la composición y concentración de nutrientes entre el cultivo del inóculo y el medio fresco pueden desencadenar el control y la regulación de la actividad enzimática. Esta fase se presenta por agotamiento del suministro de algún nutriente esencial o por acumulación de productos metabólicos que sean tóxicos. También puede ser por la disminución de la oxigenación o cambios en las condiciones de pH del medio de cultivo (acidificación o alcalinización): En esta fase se equilibran el número de células nuevas con el número de células que mueren. Por último, el cultivo entra en la fase de muerte, en la que el número de células que mueren se va haciendo mayor.

La pendiente de esta fase puede ser más o menos pronunciada de acuerdo al tipo de microorganismo de que se trate. Suelen presentarse pendientes menos bruscas cuando el microorganismo presenta alguna forma de resistencia (esporas, glicocalix). (Benintende, 2009)

Cuando tienes un cultivo en agar (caja Petri) siempre es relevante anotar la morfología colonial (colonias aisladas) de la cepa bacteriana para facilitar la identificación, los siguientes datos son de utilidad:

- Generalmente se reporta la morfología colonial tal como uno la percibe, por ejemplo si se ve que las colonias bacterianas son como puntitos, pues reportan que son puntiformes, si son lisas pues reportan que son lisas.
- Si se observa que están como moco, pues reportan que están mucosas, si su color es amarillento pues reportan que son de color amarillento, y así sucesivamente, también se pueden agregar características que se consideren importantes para identificarlas, por ejemplo el olor.

PLANA 	ACUMINADA 
PLANOCONVEXA 	UMBILICADA 
CONVEXA 	PAPILADA 

Figura 12. Morfología colonial bacteriana superficie.

PUNTIFORME 	IRREGULAR 
CIRCULAR 	RIZOIDE 
FILAMENTOSA 	FUSIFORME 

Figura 13. Morfología colonial bacteriana forma.

REDONDEADO		ESPICULADO	
ONDULADO		FILAMENTOSO	
LOBULADO		RIZOIDE	

Figura 14. Morfología colonial bacteriana borde

Streptococcus spp.



Figura 15. *Streptococcus betahemolysis* medio de cultivo agar-sangre.

Colonias grandes planoconvexa, mucoides, brillantes, forma irregular, también se observan redondeadas, bordes ondulados, lactosa positivo (consume el carbohidrato lactosa lo cual acidifica el medio y el indicador rojo de fenol cambia rojo-rosado, por ello las colonias se ven de ese color).

Klebsiella spp.



Figura 16. *Klebsiella spp.*, en agar Mac Conkey.

Colonias rosas, mucoides, bordes irregulares, convexas. Medio de cultivo Mac Conkey



Figura 17. Colonias de *Klebsella pneumoniae* en medio agar Mac Conkey.



Figura 18. Colonias de *Klebsiella pneumoniae* en medio agar Mac Conkey.

Staphylococcus spp.

Colonias medianas, convexas, de color blanco, forma circular, bordes redondeados.



Figura 19. *Staphylococcus aureus* en agar sangre.

Bacillus spp.

Colonias medianas, convexas, blanquecinas como cera, forma fusiforme y circular, bordes redondeados.



Figura 19. Colonias de *Bacillus sp* en agar nutritivo.

Colonias Grandes, planas, blanquecinas, forma irregular, bordes lobulados, dan la apariencia de estar secas, también se observa una protuberancia en el centro de las colonias lo cual les da una apariencia de huevo estrellado.



Figura 20. Colonias de *Bacillus sp* en agar nutritivo.

Escherichia coli

Las colonias de esta bacteria varían según el medio de cultivo donde crezcan, en este caso el medio de cultivo es Agar Eosina Azul de Metileno abreviado EMB, podemos observar en la imagen que las colonias tienen en demasía una coloración verde-metálico, lo cual es característico de *E. coli*, aunque hay otras bacterias que logran producir este color es muy tenue y escaso. Se logran ver colonias aisladas, son colonias medianas, circulares, convexas, moradas, contorno verde-metálico, bordes redondeados.

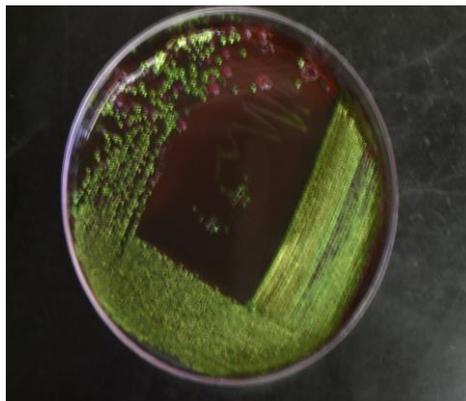


Figura 21. Color verde metálico en las colonias característico de *Escherichia coli* en medio de cultivo.

EMB



Figura 22. *Escherichia coli* en agar Mac Conkey.

Se logran ver colonias aisladas, son colonias medianas, circulares, convexas, bordes redondeados, lactosa positivas lo que les da coloración rosada.

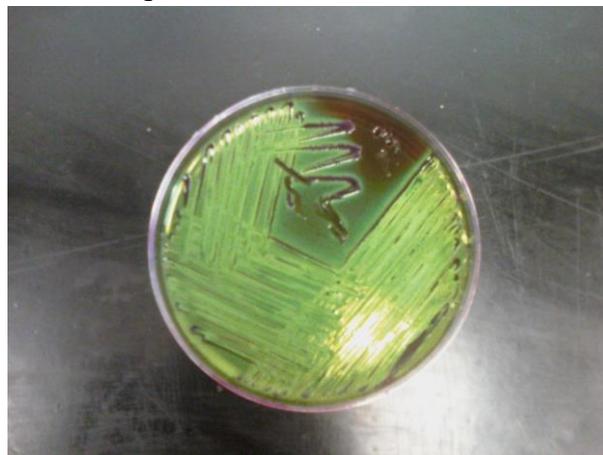


Figura 23. Color verde metálico en las colonias característico de *Escherichia coli* en medio de cultivo. EMB

Serratia marcescens

Colonias medianas, brillantes, convexas de color rojo intenso, forma circular, bordes redondeados o irregulares, acuminada y/o con protuberancia en el centro.



Figura 24. Cultivo de *Serratia marcescens*, se observa el color rojo oscuro intenso característico de esta bacteria. Medio de cultivo BHI.

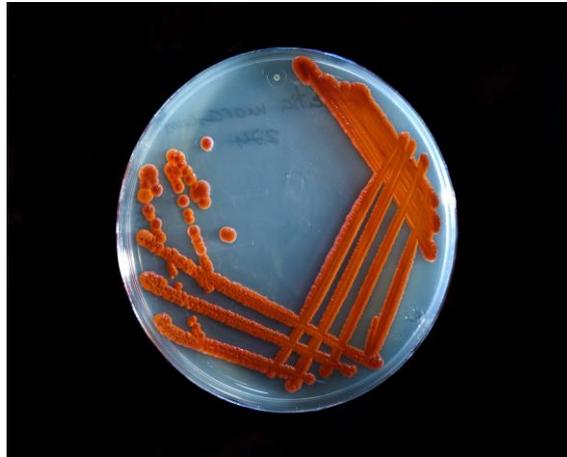


Figura 25. Cultivo de *Serratia marcescens*, se observa el color rojo intenso que es característico de esta bacteria.

Proteus mirabilis

El género *Proteus* es bien conocido por su amplia motilidad, esta se puede evidenciar en medios nutritivos como agar sangre, agar nutritivo, agar BHI, entre otros. Se forman una especie de ola alrededor de las colonias bacterianas y esta se desplaza de forma radial, a este fenómeno se le llama efecto de swarming el cual es característico de *Proteus sp.* Colonias medianas, convexas, blanquecinas o translúcidas, forma circular, bordes redondeados hay presencia de swarming.

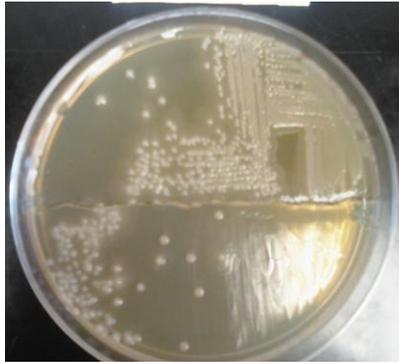


Figura 26. *Proteus mirabilis* en agar BHI con un efecto de swarming tenue.



Figura 27. *Proteus mirabilis* en agar BHI se puede observar claramente el efecto de swarming.



Figura 28. *Proteus vulgaris* en agar sangre se observa claramente el efecto de swarming, lo que evidencia la gran motilidad de la bacteria.

(Microbitos Blog, 2010)

Antecedentes:

A continuación se incluyen algunas tablas con los resultados obtenidos en tres investigaciones de determinación de calcio de diversos tipos de quesos.

Tabla 2

Producto	n	VT	VM	Producto	n	VT	VM
LE	7	110	134±5 **	Queso crema	10	270	187±143
LE + Ca	13	140	150±43	Queso untable	18	347	342±104
LD	8	110	150±25 **	Queso cremoso	22	633	702±111
LD + Ca	8	140	155±36	Queso por salut	12	650	581±129
LP entera	3	888	100±52	Queso fynbo	3	700	936±37 **
LP descremada	9	1227	123±186	Queso provolone	3	900	926±42
LP desc + Ca	3	1850	143±57 **	Queso pategrás	10	961	944±95
Yogurt	18	98.60	113±39	Queso sardo	5	818	855±65
Yogurt + Ca	3	400	499±58	Queso reggianito	24	1267	131±88
Crema de leche	19	64	66±17	Dulce de leche	19	193	212±57

LE: Leche entera. LD: Leche descremada. LP: Leche en polvo. + Ca: productos suplementados con calcio.

(Brun, 2012)

Tabla 3

Tabla IV
Contenidos de calcio de una selección de alimentos, bebidas y especias. Datos tomados de la base española de datos de composición de alimentos ¹⁵

	mg calcio/100g
Queso zamorano	999,52
Queso mahon	714,77
Albahaca	2.113
Tomillo	1.890
Eneldo	1.780
Canela en polvo	1.228
Queso parmesano	1.275
Queso rallado	881
Queso manchego	765
Queso mozzarella	632
Queso fresco burgos	338
Sardina enlatada en aceite escurrida	314
Queso en porciones	276
Almendra cruda	248,25
Chocolate con leche	247
Avellana	226
Col blanca cruda	212
Leche de almendra	200
Tofu	200
Yogur desnatado	183
Espinaca picada congelada cruda	147,33
Yogur líquido tipo actimel	146
Chipirón	144
Alubia blanca seca cruda	138,67
Judías blancas cocidas	126
Leche entera vaca	124
Leche semidesnatada vaca	114
Leche desnatada vaca	112
Petit suisse natural azucarado	120
Acelgas hervidas	107,35
Grelas	98
Borraja	93
Brécol	93
Bebida soja	3

(Farré, 2015)

Tabla 4

Densidad calórica (kcal/g)	Alimentos	Calcio (mg%)	Calorías (%)	Densidad de calcio % (mg Ca/kcal)
Baja (<0,9)	Yogur suplementado con calcio	400	50	8,0
	Leche fluida totalmente descremada	130	33	3,9
	Yogur saborizado bebible descremado	110	30	3,7
	Bebida láctea con fitoesteroles	129	41	3,1
	Leche deslactosada parc. descremada	140	45	3,1
	Yogur saborizado batido descremado	133	45	2,9
	Leche fermentada descremada	108	39	2,8
	Leche fluida parcialmente descremada	120	44	2,7
	Yogur saborizado firme descremado	110	43	2,6
	Leche chocolatada parc. descremada	120	51	2,4
	Yogur c/ colchón de frutas descremado	116	53	2,2
	Leche fluida entera	123	57	2,2
	Yogur c/ cereales descremado	134	69	1,9
	Yogur natural entero	123	67	1,8
	Leche deslactosada entera	105	58	1,8
	Postre lácteo descremado	146	80	1,8
	Yogur con fitoesteroles descremado	102	67	1,5
	Yogur saborizado firme entero	125	89	1,4
	Leche chocolatada entera	112	81	1,4
	Queso untable 0%	100	74	1,4
	Leche fermentada entera	95	82	1,2
Yogur saborizado bebible entero	93	87	1,1	
Normal (0,9 a 1,10)	Ricota magra	365	102	3,6
	Yogur saborizado batido entero	132	104	1,3
	Flan light	106	99	1,1
	Flan entero	114	106	1,1
	Queso untable semidescremado	102	104	1,0
Alta (> 1,10)	Leche en polvo fortificada con calcio	1850	360	5,1
	en polvo descremada	1303	360	3,6
	Queso cremoso light	700	213	3,3
	Quesos duros enteros	996	384	2,6
	Queso rallado entero	1390	571	2,4
	Queso en hebras light	700	290	2,4
	Queso untable fundido light	350	153	2,3
	Queso en hebras entero	800	359	2,2
	Queso semiduro entero	646	364	1,8
	Queso fundido	645	364	1,8
	Leche en polvo entera	821	490	1,7
	Leche condensada light	250	146	1,7
	Queso cremoso entero	452	289	1,6
	Queso untable fundido entero	635	474	1,3
	Ricota entera	209	169	1,2
	Leche condensada	284	321	1,1
	Yogur c/ cereales entero	118	118	1,0
	Dulce de leche entero	322	341	0,9
	Yogur c/ colchón de frutas entero	98	146	0,7
	Postre lácteo entero	112	183	0,6
	Dulce de leche light	64	256	0,3
	Queso untable entero	56	245	0,2
	Crema de leche	65	352	0,2
	Manteca	15	758	0,1

(Botticella, 2014)

Metodología:

Tratamiento de la muestra:

1. Se tomó una masa próxima a 4 g de la muestra de queso y se calcinó en plancha.
2. Se llevó a la mufla a 550 °C durante 4 horas hasta masa constante.
3. Se colocó las cápsulas en desecador y se dejó enfriar.
4. Se agregó a las cenizas 5 mL de HCl 1:1 y calentó en plancha a baja temperatura hasta sequedad evitando que se pierda ceniza, a fin de deshidratar los silicatos y hacerlos solubles.
5. Se agregó 5 mL de ácido clorhídrico 1:1 y se calentó suavemente durante 15 minutos.
6. Se transfirió la solución con ayuda de agua destilada y embudo, a un matraz aforado de 100,00 mL y enrasó.

Análisis de la muestra con EDTA:

1. Se tomó una alícuota de 10,00 mL de la solución muestra obtenida del procedimiento de tratamiento de la muestra y se trasvasó a un matraz aforado de 100,00 mL.
2. Se agregó una solución de hidróxido de sodio 6,0 mol/L hasta pH = 12.
3. Se tomó una alícuota de 10,00 mL de la solución y se colocó en un Erlenmeyer de 150 mL.
4. Se agregó una punta de espátula de murexida al 1 %.
5. Se valoró con EDTA (0,000280 ± 0,000044) mol/L hasta cambio de color morado.
6. Se realizaron cinco valoraciones.

Análisis por gravimetría:

1. Se tomó una alícuota de 50,00 mL del procedimiento de tratamiento de la muestra y transfirió a un vaso de bohemia de 500 mL. Se agregó agua destilada hasta un volumen aproximado de 150 mL.
2. Se agregaron 3 gotas de indicador rojo de metilo y ajustó a pH 3,0 con hidróxido de amonio y ácido clorhídrico 1:1 (el pH = 3,0 se alcanza cuando al agregar una gota de cada uno desaparece el color del otro. Hidróxido de amonio: amarillo y ácido clorhídrico: rosado). Se dejó de color rosado.
3. Se calentó suavemente hasta ebullición.
4. Se agregó 10,0 mL de solución de oxalato de amonio, tapó y guardó en oscuridad mínimo 4 horas.
5. Se filtró por gravedad y lavó con agua destilada, mínimo 3 veces.
6. Se tomó el papel filtro y se colocó nuevamente en el vaso de bohemia, se añadió agua destilada (50 mL), y se agitó con varilla de vidrio suavemente.
7. Se añadió 7 mL de ácido sulfúrico concentrado, teniendo cuidado que no caiga directamente sobre el papel para evitar quemarlo.
8. Se calentó suavemente en la plancha hasta ebullición.
9. Se tituló en caliente con permanganato de potasio hasta la aparición de color rosado permanente (15 a 30 segundos).
10. Se registró el volumen consumido.
11. Se preparó un blanco (valorando con todos los componentes (papel filtro, ácido sulfúrico y permanganato de sodio) para saber cuánto varían las interferencias). *Nota: El papel está formado por celulosa, que se descompone en glucosa por acción del*

ácido sulfúrico. Este reacciona con el permanganato de potasio, consumiendo parte del mismo, por eso es necesario realizar un blanco.

Resultados:

Resultados obtenidos por Gravimetría

Tabla 5

Muestra	Masa de cenizas	Porcentaje de calcio en cenizas
1	$(0,2716 \pm 0,0001)$ g	$(0,6258 \pm 0,0062)$ % m/m
2	$(0,1622 \pm 0,0001)$ g	$(0,7896 \pm 0,0078)$ % m/m

Resultados obtenidos por Complejometría

Tabla 6

Muestra	Masa de queso	Porcentaje de calcio en 100 g de queso
1	$(4.1457 \pm 0,0001)$ g	$(1,0251 \pm 0,0102)$ % m/m
2	$(3.7186 \pm 0,0001)$ g	$(1,0251 \pm 0,0102)$ % m/m

Discusión:

En comparación con los antecedentes, sobre los valores obtenidos como resultados se puede decir que los mismos se encuentran dentro del margen de error de otras investigaciones y dentro lo permitido por las Normas de Bromatología de nuestro país (0,11 % y 1,3 % según los diferentes tipos).

Conclusión:

Mediante el método de permanganometría se obtuvieron los siguientes resultados: $(0,7896 \pm 0,0078)$ % m/m y $(0,6258 \pm 0,0062)$ % m/m, mediante el método de complejometría se obtuvieron los siguientes resultados: $(1,0251 \pm 0,0102)$ % m/m y $(1,0251 \pm 0,0102)$ % m/m, cumpliendo así con los objetivos propuestos.

Bibliografía:

Davies, J. (2015). “*Approach to the child with hypercalcaemia*”.

Recuperado de URL: https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/14_patol_meta.pdf

Valencia, F., Román, M. y Cardona, D. (2010). “*El calcio en el desarrollo de alimentos funcionales*”. Recuperado de URL: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3786212.pdf>

Química Analítica I, FBCB, UNL, (2019). “*Titulación volumétrica por formación de COMPLEJOS*”

Recuperado de URL: https://fcb.web1.unl.edu.ar/laboratorios/ladaq/wp-content/uploads/2019/10/TP_N6.pdf

Juliaca, (2015). “*Permanganometria*”. Recuperado de URL: <https://www.monografias.com/trabajos105/permanganometria/permanganometria.shtml>

La Anuciata Ikerketa, (2013). “*Fermentación Lactica*”. Recuperado de URL: <http://www.laanunciataikerketa.com/trabajos/yogur/fermentacion.pdf>

Moreno, F, (2016). “*Determinación complexométrica con EDTA de la dureza de aguas corrientes y aguas minerales naturales*”. Recuperado de URL: <http://www.escritoscientificos.es/trab21a40/durezagua/pagina01.htm#arriba>

Fondonorma, (2004). “*Norma venezolana carne y productos cárnicos. Determinación de calcio*”. Recuperado de URL: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/13029/1/16103699.pdf>

De Paz, J. y Núñez, P. (2017). “*Determinación de óxido de calcio en cemento portland comercializado en ferreterías ubicadas en el centro histórico de San Salvador por métodos titrimétricos y espectrofotométrico*”. Recuperado de URL: <http://www.sencamer.gov.ve/sencamer/normas/3856-04.pdf>

Brun, L. (2012). “*Relevamiento del contenido de calcio en lácteos de uso masivo*”. Recuperado de URL: http://osteologia.org.ar/files/pdf/rid31_Brun.pdf

Farré, R. (2015). “*La leche y los productos lácteos: fuentes dietéticas de calcio*”. Recuperado de URL: <http://www.aulamedica.es/nh/pdf/8676.pdf>

Botticella, F. (2014). “*Densidad de calcio de los alimento lácteos clasificados según su densidad calórica*”. Recuperado de URL: http://osteologia.org.ar/files/pdf/rid36_botticella.pdf

Reglamento Bromatológico Nacional, (1994). “*Decreto N° 315/994 Capitulo 16*”. Recuperado de URL: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/315-1994/16>

Benintende, S. (2009) “Crecimiento Bacteriano”. Recuperado de URL: http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/microbiologia/unidad_3_crecimiento_bacteriano

Microbitos Blog. (2010). “Morfología colonial bacteriana en medios de cultivo.” Recuperado de URL: <http://microbitosblog.com/2010/06/14/morfologia-colonial-bacteriana/>

Carl Roth. (2020) Ficha de datos de seguridad “Permanganato de potasio”. Recuperado de URL: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-KK08-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyOTU3MzF8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oNjkvaDQ0LzG5ODgxNjg5Nzg0NjJucGRmfGQ1Yzg0NzllZjg1NjY3YmZjNTBhNmRhM2NiOTY4N2VhY2IwZDEzZDgxNWMyOWY4YjJhMTRhZDVmODg4NzlmMzk>

Carl Roth. (2020) Ficha de datos de seguridad “Ácido sulfúrico”. Recuperado de URL: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-X946-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyODU1MTN8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oNTYvaDJKLzG5NTA5ODE4MjA0NDYucGRmfDEwZjA0Y2FiZDZiNmIxMmVkJmN2FhYTA0YWM2YTE5ZTM0OTVMTczNTFkNDdkOGNIMTNiMmYyNDgyZjBmZmM3OTA>

Carl Roth. (2020) Ficha de datos de seguridad “di-Amonio oxalato Monohidrato” Recuperado de URL: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-4266-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wxOTQ0MTh8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oYTYvaGRkLzG5NTA4ODgzNjYxMTAucGRmfDJhZjAzYmFiYTUyNGJiN2JkOTkwYTY3M2M3OWYxODQ4ZTg2MW4M4NTM4ZWVkaDQ0OTIiYWMxODVIMDQ5OTY0OTI4MGI>

Carl Roth. (2020) Ficha de datos de seguridad “EDTA” Recuperado de URL: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-CN51-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wxOTcyMzh8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oM2YvaDQyLzG5NTA5ODQ0MDkxMTgucGRmfDEyYzk5ZmVmNmY1NDA3ZWYwNDhmNzQ0MmVmMDc0NDFjMTFIM2E3MzE1NTc0MWU3MzE0Mjg3OTIiZWJjNjIOWE>

Carl Roth. (2020) Ficha de datos de seguridad “Murexida” Recuperado de URL: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-T124-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyMzQyOTI8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oYzgvaGNILzkwMDAyOTMzNjc4MzgucGRmfDYwY2JINDdkZWVkaDQ0OTIiYmZjM0YTIxMjRmZjAzZWlwOTkxNTk4NzU2MmM3MDUxMzRiNWZjM2UzMjFiNzUxYWJmYWU>

Carl Roth. (2020) Ficha de datos de seguridad “*Hidróxido de sodio*” Recuperado de URL: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-6771-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyNzk0OTd8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oN2MvaDA3Lzg5OTAzOTE2MzE5MDIucGRmfGM5MDkwNWZlY2YxYTg5ZTM4OTBmZDNmYzBIMjM0NmI0ZWl2ZDE4MzAwM2EyNGVmMDQxZWVkaWZlMzNTQzNWE1NmU>

Carl Roth. (2020) Ficha de datos de seguridad “*Ácido clorhídrico*” Recuperado de URL: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-K025-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyODY4NzB8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oYzIvaDhhLzg5OTUyMzgzMTQwMTQucGRmfDhkMmQwMDU0NjMyYTVhNWU0NjhiNDVhNGVhMjcyZmQ1NWM5OTQxMTZmNmU4MDZhNGIzZWl0ODcxY2ZlOTIyMWY>

Anexos:

Concentración de ácido oxálico:

$$\text{eq} = 1,5735\text{g}/63,03\text{g}_{/\text{eq}} = 0,0249643 \text{ eq}$$

$$N = \text{eq}/V = 0,0249643 \text{ eq}/0,250 \text{ L} = 0,0998572 \text{ eq/L}$$

$$\delta N = (\delta m/m + \delta V/V). N = 0,000066$$

$$N = (0,099857 \pm 0,000066) \text{ eq/L}$$

Concentración de permanganato de potasio:

$$N_{\text{KMnO}_4} \cdot V_{\text{Gasto}} = N_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4} \cdot V_{\text{Toma}}$$

Repetición 1

$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{0,099857 \text{ N} \cdot 10,00 \text{ mL}}{11,00 \text{ mL}} = 0,09077909 \text{ N}$$

Repetición 2

$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{0,099857 \text{ N} \cdot 10,00 \text{ mL}}{10,50 \text{ mL}} = 0,0951019 \text{ N}$$

Repetición 3

$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{0,099857 \text{ N} \cdot 10,00 \text{ mL}}{10,30 \text{ mL}} = 0,09694854 \text{ N}$$

Repetición 4

$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{0,099857 \text{ N} \cdot 10,00 \text{ mL}}{10,30 \text{ mL}} = 0,09694854 \text{ N}$$

Repetición 5

$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{0,099857 \text{ N} \cdot 10,00 \text{ mL}}{10,30 \text{ mL}} = 0,09694854 \text{ N}$$

$$N_{\text{KMnO}_4} = (0,0953 \pm 0,0033) \text{ eq/L}$$

Determinación del calcio

$$\% \text{ Ca} = \frac{V \times N \times 20,004 \times Vt}{A \times m \times 1000} \times 100$$

Donde

- V: Volumen de KMnO_4 gastados en la titulación en mL
- N: Normalidad de la solución de KMnO_4
- A: Alícuota de la solución, de cenizas en mL
- m: Masa de la muestra en gramos (en la solución de cenizas)
- Vt: Volumen total de la solución de cenizas en mL
- 20,004: masa equivalente del calcio en mg

$$\% \text{ Ca} = \frac{5,35 \text{ mL} \times 0,04765 \text{ N} \times 20,004 \times 50 \text{ mL}}{150 \text{ mL} \times 0,2716 \times 1000} \times 100 = \frac{254.9784855}{40740} \times 100$$

$$\% \text{ Ca} = (0,6258 \pm 0,0062) \% \text{ m/m}$$

$$\% \text{ Ca} = \frac{6,75 \text{ mL} \times 0,04765 \text{ N} \times 20,004 \times 50 \text{ mL}}{150 \text{ mL} \times 0,2716 \times 1000} \times 100 = \frac{321.7018275}{40740} \times 100$$

$$\% \text{ Ca} = (0,7896 \pm 0,0078) \% \text{ m/m}$$

Concentración de sulfato de magnesio:

$$n = 0,6368 \text{ g} / 246,4 \text{ g/mol} = 0,00258441558 \text{ mol}$$

$$M = 0,00258441558 \text{ mol} / 0,250 \text{ L} = 0,01033766233 \text{ mol/L}$$

$$\delta M = (\delta m/m + \delta V/V). M = 0,0000078$$

$$M = (0,01033766 \pm 0,0000078) \text{ mol/L}$$

Concentración del EDTA:

$$M_{\text{EDTA}} \cdot V_{\text{Gasto}} = M_{\text{MgSO}_4} \cdot V_{\text{Toma}}$$

Repetición 1

$$M_{\text{EDTA}} = \frac{0,01033766 \text{ mol/L} \cdot 20,00 \text{ mL}}{22,00 \text{ mL}} = 0,00939787272 \text{ mol/L}$$

Repetición 2

$$M_{\text{EDTA}} = \frac{0,01033766 \text{ mol/L} \cdot 20,00 \text{ mL}}{22,00 \text{ mL}} = 0,00939787272 \text{ mol/L}$$

Repetición 3

$$M_{\text{EDTA}} = \frac{0,01033766 \text{ mol/L} \cdot 20,00 \text{ mL}}{21,90 \text{ mL}} = 0,00944078538 \text{ mol/L}$$

Repetición 4

$$M_{\text{EDTA}} = \frac{0,01033766 \text{ mol/L} \cdot 20,00 \text{ mL}}{21,80 \text{ mL}} = 0,00948409174 \text{ mol/L}$$

Repetición 5

$$M_{\text{EDTA}} = \frac{0,01033766 \text{ mol/L} \cdot 20,00 \text{ mL}}{21,90 \text{ mL}} = 0,00944078538 \text{ mol/L}$$

$$M_{\text{EDTA}} = (0,009432 \pm 0,000044) \text{ mol/L}$$

Diluciones del EDTA

$$M_{\text{Inicial}} \times V_{\text{Inicial}} = M_{\text{Final}} \times V_{\text{Final}}$$

$$\frac{0,009432 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 0,030 \text{ L}}{0,500 \text{ L}} = 0,00056 \text{ mol/L}$$

$$M_{\text{Inicial}} \times V_{\text{Inicial}} = M_{\text{Final}} \times V_{\text{Final}}$$

$$\frac{0,00056 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 0,050 \text{ L}}{0,100 \text{ L}} = 0,00028 \text{ mol/L}$$

Determinación del calcio

$$C_{\text{EDTA}} \times V_{\text{Gasto}} = C_{\text{CaCO}_3} \times V_{\text{Toma}}$$

Muestra 1

Repetición 1

$$C_{\text{Ca}} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,25 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00012 \text{ mol/L}$$

Repetición 2

$$C_{\text{Ca}} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,60 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00013 \text{ mol/L}$$

Repetición 3

$$C_{Ca} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,15 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00012 \text{ mol/L}$$

Repetición 4

$$C_{Ca} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,40 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00012 \text{ mol/L}$$

Repetición 5

$$C_{Ca} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,10 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00011 \text{ mol/L}$$

$$C_{Ca} = (0,00012 \pm 0,0000087) \text{ mol/L}$$

$$C_{\text{Inicial}} \times V_{\text{Inicial}} = C_{\text{Final}} \times V_{\text{Final}}$$

$$\frac{0,00012 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 100,00 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,0012 \text{ mol/L}$$

$$C_{g/L} = 0,0012 \text{ mol/L} \times 100,0869 \text{ g/mol} = 0,0425 \text{ g/L}$$

Muestra 2

$$C_{\text{EDTA}} \times V_{\text{Gasto}} = C_{\text{CaCO}_3} \times V_{\text{Toma}}$$

Muestra 1

Repetición 1

$$C_{Ca} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,70 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00013 \text{ mol/L}$$

Repetición 2

$$C_{Ca} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,05 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00011 \text{ mol/L}$$

Repetición 3

$$C_{Ca} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,75 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00013 \text{ mol/L}$$

Repetición 4

$$C_{Ca} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,60 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00013 \text{ mol/L}$$

Repetición 5

$$C_{Ca} = \frac{0,00028 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 4,45 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,00012 \text{ mol/L}$$

$$(0,000124 \pm 0,000011) \text{ mol/L}$$

$$C_{\text{Inicial}} \times V_{\text{Inicial}} = C_{\text{Final}} \times V_{\text{Final}}$$

$$\frac{0,000124 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 100,00 \text{ mL}}{10,00 \text{ mL}} = 0,0012$$

$$C_{g/L} = 0,0012 \text{ mol/L} \times 35,453 \text{ g/mol} = 0,0425 \text{ g/L}$$

Fichas de Seguridad:

Ácido clorhídrico

Palabra de advertencia **Atención**

Pictogramas

GHS05



Indicaciones de peligro

H290 Puede ser corrosivo para los metales

Consejos de prudencia

Consejos de prudencia - prevención

P234 Conservar únicamente en el embalaje original.

Consejos de prudencia - respuesta

P390 Absorber el vertido para que no dañe otros materiales.

Hidróxido de Sodio

Palabra de advertencia **Peligro**

Pictogramas

GHS05



Indicaciones de peligro

H290 Puede ser corrosivo para los metales
H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves

Consejos de prudencia

Consejos de prudencia - prevención

P233 Mantener el recipiente herméticamente cerrado.
P280 Llevar guantes/gafas de protección.

Consejos de prudencia - respuesta

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].
P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.
P310 Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.

EDTA

Palabra de advertencia

Atención

Pictogramas



Indicaciones de peligro

H373 Puede provocar daños en los órganos (sistema respiratorio) tras exposiciones prolongadas o repetidas (en caso de inhalación).

Consejos de prudencia

Consejos de prudencia - respuesta

P314 Consultar a un médico en caso de malestar.

Componentes peligrosos para el etiquetado: Ácido etilendiaminotetraacético, sal disódica dihidrato

Hidróxido de Amonio

Pictogramas de peligro



Palabra de advertencia

Peligro

Indicaciones de peligro

H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

H335 Puede irritar las vías respiratorias.

H400 Muy tóxico para los organismos acuáticos.

Consejos de prudencia

Prevención

P273 Evitar su liberación al medio ambiente.

P280 Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.

Intervención

P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagar la boca. NO provocar el vómito.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

P308 + P310 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.

Oxalato de Amonio

Palabra de advertencia

Atención

Pictogramas



Indicaciones de peligro

H302+H312 Nocivo en caso de ingestión o en contacto con la piel

Consejos de prudencia

Consejos de prudencia - prevención

P270 No comer, beber ni fumar durante su utilización.

P280 Llevar guantes/gafas de protección.

Consejos de prudencia - respuesta

P302+P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: lavar con abundante agua.

Ácido Sulfúrico

Palabra de advertencia

Peligro

Pictogramas

GHS05



Indicaciones de peligro

H290 Puede ser corrosivo para los metales

H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves

Consejos de prudencia

Consejos de prudencia - prevención

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Consejos de prudencia - respuesta

P301+P330+P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagar la boca. NO provocar el vómito.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

P310 Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.

Permanganato de Potasio

Palabra de advertencia

Peligro

Pictogramas

GHS03, GHS07,
GHS08, GHS09



Indicaciones de peligro

H272	Puede agravar un incendio; comburente
H302	Nocivo en caso de ingestión
H361d	Se sospecha que daña al feto
H410	Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos

Consejos de prudencia

Consejos de prudencia - prevención

P220	Mantener alejado de la ropa y otros materiales combustibles.
P273	Evitar su liberación al medio ambiente.
P280	Llevar guantes/gafas de protección.

Reservado exclusivamente a usuarios profesionales

Imágenes:

Pre calentamiento de la muestra



Calcinación de la muestra



Tratamiento de las cenizas (solución en HCl 1:1)



Titulación de EDTA y Sulfato de magnesio heptahidratado con negro de eriocromo como indicador



Titulaciones complejométricas de EDTA con las muestras con murexida como indicador



Formación de oxalato de calcio, con rojo de metilo como indicador (reposo en oscuridad por más de 4 horas)



(Viraje de rojo de metilo)
Filtrado del oxalato de calcio



Titulación de Permanganato de potasio y oxalato de sodio patrón



Titulación de las muestras con permanganato de potasio



Crecimiento de Colonias bacterianas (Microbiología)



