

Tesis de Posgrado

Determinación de la relación glucosa/levulosa en mieles argentinas

Ugarte, Leopoldo

1944

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química
de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Ugarte, Leopoldo. (1944). Determinación de la relación glucosa/levulosa en mieles argentinas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0378_Ugarte.pdf

Cita tipo Chicago:

Ugarte, Leopoldo. "Determinación de la relación glucosa/levulosa en mieles argentinas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1944.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0378_Ugarte.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

FOYMA

Determinación de la relación GLUCOSA/LEVULOSA
————— en mieles Argentinas —————
—————

Tesis: 378

Estudio que LEOPOLDO
UGARTE presenta como tesis al
doctorado en química.

Buenos Aires

1944

AGRADEZCO:

Al Dr. Pedro Cattaneo, quien me indicó el tema y bajo cuya acertada dirección puede realizar el trabajo.

Al Prof. José Lubertino, que generosa y espontáneamente me ofreció su colaboración, poniendo a mi disposición laboratorio y material de trabajo del Instituto del cual es Director.

A la Dirección de Enseñanza agrícola del Ministerio de Agricultura de la Nación y a la Asociación de Criadores de Aves, Conejos y Abejas, entidades que facilitaron a la Cátedra las muestras para su análisis.

DETERMINACION DE LA RELACION GLUCOSA/LEVULOSA EN

MIELES ARGENTINAS

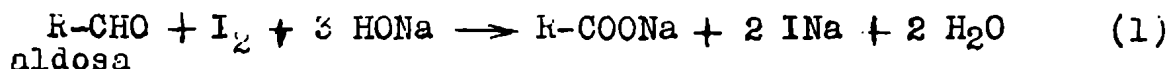
FOENBA

Revisión bibliográfica sobre el tema

Iodometría de aldosas

La determinación de azúcares reductores por los métodos basados en el uso de soluciones alcalinas de cobre, son en general, aplicables a todos los azúcares, por lo que no permiten la determinación específica de un grupo particular de ellos. Por este motivo, para la determinación de aldosas en presencia de otros azúcares, especialmente cetosas (levulosa) y disacáridos no reductores (sacarosa), se hace necesaria la aplicación de métodos especiales; tales son los métodos estequiométricos basados en la oxidación de las aldosas por el iodo en medio alcalino.

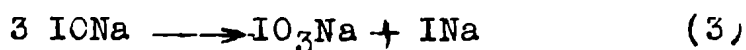
Se fundan en la siguiente reacción, originariamente aplicada por Romijn (1):



La reacción transcurre primero entre el iodo y el hidróxido de sodio, formándose hipiodito de sodio, que es el verdadero agente oxidante:

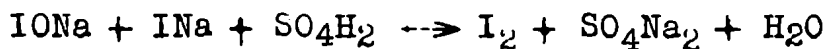


Según las condiciones de temperatura, tiempo y concentración, el hipiodito se descompone en mayor o menor proporción en iodato y ioduro:



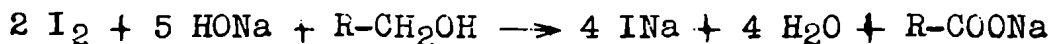
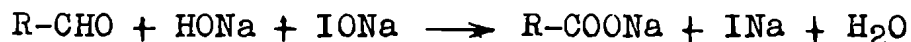
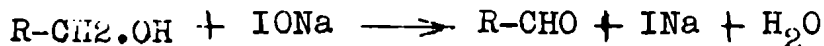
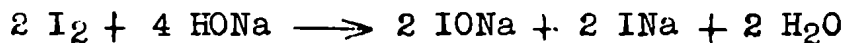
perdiéndose entonces parte del iodo activo, por no ser el iodato

oxidante en solución alcalina. El iodo no reducido, que es el que queda como IO₃Na y el IONa, se recupera al acidificar la solución y se titula con tiosulfato de sodio standard:



La diferencia entre el iodo total añadido y el exceso de iodo encontrado por la titulación con tiosulfato, representa la cantidad usada en la oxidación estequiométrica de la aldosa de acuerdo a la ecuación (1).

Manteniendo la relación de dos átomos de iodo para tres moléculas de hidróxido de sodio la oxidación de las aldosas es cuantitativa, mientras que las cetosas y azúcares no reductores permanecen prácticamente inatacados. En cambio, variando esas proporciones (2), a pesar de no tener éstos función aldehídica, podría ocurrir la oxidación de la función alcohólica terminal de la cadena, así:



En este caso la relación es de dos moléculas de iodo por cada 5 moléculas de hidróxido de sodio.

Debido a esto, es indispensable, a los efectos de obtener

resultados exactos, que en la determinación cuantitativa de aldosas se respete la relación de dos átomos de iodo por cada tres moléculas de hidróxido de sodio. Este es el fundamento de los métodos que se detallan seguidamente.

El método en su primitiva forma fué ideado por Romijn, quien usó sales buffer, tales como carbonatos alcalinos, bicarbonatos, fosfatos y bórax para disminuir la alcalinidad con el objeto de evitar la sobreoxidación que encontraba empleando álcali cáustico, y la oxidación completa necesitaba más de 18 horas a la temperatura de 25°. A partir de entonces muchos investigadores estudiaron el método, no encontrando siempre resultados concordantes.

METODO DE WILLSTATER Y SCHUDEL (3). Uno de los inconvenientes encontrados por Romijn era el largo tiempo necesario para la oxidación completa de la aldosa. Willstätter y Schudel lo redujeron enormemente adoptando la siguiente técnica:

A una cantidad determinada de la solución que contiene la aldosa más la cetosa (muestra) se le añade una cantidad de iodo N/10 doble de la necesaria para la oxidación completa e hidróxido de sodio N/10 una vez y media de la cantidad de iodo, gota a gota y la solución se deja por 12 á 15 minutos (hasta 20 en el caso de pequeñas cantidades de azúcares) a la temperatura ambiente. Luego ácido sulfúrico o clorhídrico diluído en ligero exceso y se titula el iodo liberado con tiosulfato de sodio e indicador almidón.

1 ml. de iodo N/10 equivale a 9,005 mg. de aldohexosa
7,004 " " aldopentosa
17,11 " " disacárido reductor
(maltosa o lactosa)

Cantidades pequeñas de azúcares se dosan con más exactitud con iodo N/50 o N/100. Pueden usarse concentraciones mayores de azúcares aumentando proporcionalmente los volúmenes de los reactivos.

Kolthoff (4) recomienda un mayor exceso de iodo (2,5 veces el necesario y la misma cantidad de álcali). En estas condiciones la oxidación es completa para glucosa, galactosa, arabinosa o maltosa de 3 á 5 minutos, en cambio la lactosa requiere alrededor de 10 minutos; el mismo autor observa que bajo las condiciones anteriores cada gramo de levulosa absorbe 1,2 ml de iodo y puede ser así corregido; la sacarosa tiene un efecto menor y absorbe de 0,35 á 0,60 ml de iodo N/10 por gramo, dependiendo de la concentración y del tiempo. Otras sustancias, tales como el alcohol, los ácidos fórmico y láctico, dextrinas, aminoácidos, etc., también absorben iodo y en el caso de encontrarse presentes deben hacerse correcciones separadamente para cada uno de ellos. Por esta razón el método no puede aplicarse a productos azucarados impuros de composición desconocida.

Goebel (5) indicó que la forma de adición del álcali requiere la observación de precauciones especiales; cuando se añade en un período de 2 á 4 minutos se obtienen resultados correctos; en cambio, cuando se añaden más rápidamente la oxidación no es completa por producirse la reacción 2 (pág.1).

METODO DE AUERBACH Y BODLANDER (6). Con el objeto de reducir el error debido a la presencia de levulosa, para su aplicación al análisis de mieles, estos autores emplearon una solución buffer de pH 10,1 á 10,2 en lugar del HONa, procediendo de la siguiente manera:

A 25 ml de solución (conteniendo 0,2 gramos de miel) se añaden 1,5 á 2 veces el iodo N/10 necesario para la oxidación completa de la glucosa; luego una mezcla de 50 ml de solución 0,2 M de CO_3Na_2 y 50 ml de solución 0,2 M de CO_3HNa , dejando de 1,5 á 2 horas en la obscuridad; por último se acidifica con 12 ml de ácido sulfúrico al 25 % y se titula el iodo liberado con tiosulfato de sodio N/10, llevando a cabo un ensayo en blanco paralelo con 25 ml de agua en lugar del azúcar. La diferencia entre las dos titulaciones da el número de ml de iodo usados para la oxidación y multiplicando por 9,007 se obtiene el peso en mgr. de glucosa presente en la muestra. De este modo, cuando hay 100 mgr. de levulosa sólo reducen el iodo correspondiente a 1 mg de glucosa, de donde puede deducirse el factor de corrección; la sacarosa absorbe tan poco iodo que su acción se puede despreciar.

Donwes Dekker (7) y otros investigadores ensayaron este método con azúcares puros y no obtuvieron la oxidación completa en el tiempo indicado por Auerbach y Bodländer, los análisis por duplicado no daban resultados concordantes y el tiempo de oxidación significaba un gran inconveniente para los análisis de rutina.

Otros investigadores que examinaron el método del hipiodi- to, ya sea con hidróxido de sodio o con sales buffer, como mez-

clas de carbonatos y fosfatos, no han conseguido obtener resultados concordantes. Se encontró que el curso de la reacción es enormemente afectado no sólo por las proporciones entre el azúcar, el iodo y el álcali, sino también por la rapidez con que se añade el álcali, por el tiempo y la temperatura empleados. Cuando el álcali se añade rápidamente gran parte del hipiodito se transforma en iodato y el iodo remanente puede ser insuficiente para oxidar completamente el azúcar. Cuando el álcali es insuficiente, o el tiempo de oxidación muy corto o la temperatura demasiado baja, se obtiene también oxidación incompleta. En cambio, aumentando la cantidad de iodo, álcali, tiempo y temperatura, la oxidación de la glucosa puede ir más allá del ácido aldónico.

METODO DE KLINE Y ACREE (2). Estos autores propusieron un método mediante el cual los errores mencionados (formación de iodato y sobreoxidación), pueden evitarse usando exceso definido de iodo y álcali, y añadiendo éstos en porciones alternadas, luego una cantidad de ácido definida y titulando por último el iodo liberado y el ácido remanente. De esta forma es posible verificar el resultado de la titulación del iodo midiendo también el álcali usado en la reacción, (según lo habían indicado Slaton y Acree (8)). La técnica usada es la siguiente:

Tomar una solución de azúcar o peso que necesite aproximadamente 20 ml de iodo N/10 para su oxidación; si la solución no es neutra añadir ácido clorhídrico o hidróxido de sodio N/10 hasta neutralidad usando indicador fenolftaleína (una gota solamente

porque esta contiene alcohol, que absorbe iodo (9), para evitar lo cual puede usarse fenol red o timol blue). Añadir 5 ml de iodo N/10 medidos con una bureta; luego, agitando vigorosamente, gota a gota desde otra bureta, 7,5 ml de HONa N/10, siguiendo así hasta agregar 22 ml de iodo y 35 ml de hidróxido, tardando en el transcurso de toda la operación de 5 á 6 minutos; dejar 2 minutos hasta oxidación completa. Añadir ácido clorhídrico N/10 o N/5 hasta liberar todo el iodo y titular con tiosulfato de sodio N/10; finalmente titular el exceso de ácido clorhídrico con hidróxido de sodio N/10 o indicador fenolftaleína.

La cantidad de tiosulfato necesaria para la titulación del iodo liberado debe oscilar entre 1,5 y 2 ml; por debajo de 1,5 hay falta de iodo y por consiguiente oxidación incompleta; por encima de 2 ml hay sobreoxidación y en ambos casos es necesario repetir la experiencia aumentando o disminuyendo las cantidades de iodo e hidróxido de sodio.

Cuando se acidifica la solución, una pequeña cantidad de ácido aldónico forma la correspondiente lactona y esto produce la decoloración de la fenolftaleína durante la neutralización final con álcali; sin embargo, añadiendo el álcali lentamente, el color persiste durante un minuto.

1 milimol de aldohexosa (0,180 g) requiere para su completa oxidación 20 ml de iodo N/10 y 30 ml de HONa N/10.

Por este método pueden determinar satisfactoriamente glucosa, galactosa, lactosa y xilosa, y mientras el iodo y el álcali se u-

sen en las proporciones establecidas, las octosas y azúcares no reductores no son lo suficientemente oxidados como para interferir con la precisión del método. Los xilanos y galactanos tienen también muy poca influencia; sin embargo, los compuestos fenólicos alteran la relación de 2:3 para iodo y álcali.

Según Miller (10), el procedimiento de Kline y Acree da resultados ligeramente bajos con lactosa (98,6 % del teórico) en el tiempo de oxidación de 8 minutos, pero la reacción es completa a los 15. Las mezclas de glucosa y lactosa necesitan 15 minutos para su oxidación, mientras que la adición de sacaros acelera la reacción, haciéndose completa a los 5 minutos.

Por consiguiente, debe tenerse cuidado en la interpretación de los resultados por el método del hipiodito y para su contraste deben efectuarse siempre análisis de mezclas de los azúcares puros en concentraciones aproximadas a las presentes en la muestra.

METODO DE LOTHROI Y HOLMES PARA LA DETERMINACION DE GLUCOSA EN MIEL (11). Estos autores hicieron un amplio estudio de los factores que rigen la oxidación de glucosa, levulosa y sacarosa por iodo en soluciones alcalinas, tales como temperatura, tiempo, concentración y forma de agregar los reactivos, similar al de Willstätter y Schudel, que siendo más simple que el de Kline y Acree, tiene la ventaja de estar especialmente adaptado al análisis de mieles. Usaron la técnica siguiente:

A 20 ml de solución conteniendo 0,2 g de miel en un Erlenmeyer de 250 ml, se añaden 40 ml de iodo 0,05 N; luego, despacio y

con agitación continua, 25 ml de hidróxido de sodio N/10; se tapa y se deja a 20° durante 10 minutos, se acidifica con 5 ml de ácido sulfúrico 2N y se titula enseguida con tiosulfato de sodio 0,05 N e indicador almidón.

El peso en gramos de glucosa (sin tener en cuenta la acción de la levulosa) se encuentra multiplicando los ml de iodo 0,05 N gastados por 0,004502, pero siendo la levulosa oxidada ligeramente por el hipiodito, es menester aplicar una corrección en el cálculo final. La sacarosa se oxida muy poco y en mieles genuinas no necesita corrección.

El total de azúcares reductores se determina por el método de Munson y Walker (12):

25 ml₂ de solución A (conteniendo 34,639g de sulfato de cobre cristalizado en 500 ml de agua) más 25 ml de solución B (conteniendo 173 g de sal de Rochelle y 50 g de hidróxido de sodio en 500 ml de agua), se colocan en un vaso de vidrio Pyrex de 400 ml; se agregan 50 ml de solución de azúcar reductor, se cubre con un vidrio de reloj y se calienta hasta ebullición en el término de 4 minutos, manteniendo así exactamente durante dos minutos. Se filtra a través de asbesto con succión en un crisol de Gooch, se lava el óxido cuproso con agua a 60°, luego con 10 ml de alcohol y finalmente con éter. Se seca durante 30 minutos a 100°, se enfría en un desecador y se pesa como 0Cu₂ y el peso de azúcar correspondiente se saca de las tablas.

El cálculo final se hace como sigue: Siendo L_A el porcentaje aproximado de levulosa, R el porcentaje total de azúcares reductores calculados como glucosa por el método de Munson y Walker, D₁ el por

ciento de glucosa aparente (determinado iodométricamente), L el porcentaje de levulosa verdadera y D el porcentaje de glucosa verdadera, se tiene:

$$L_A = 1,081 (R - D_1)$$

$$D = D_1 - 0,012 L_A$$

$$L = 1,081.(R - D)$$

en la cual el factor 1,081 es el recíproco del valor 0,925, que es la relación de levulosa a glucosa a una concentración aproximadamente constante de los azúcares reductores especificada por el método.

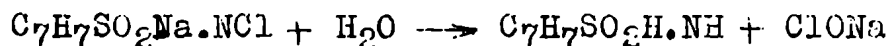
Mediante este método los autores analizaron un gran número de mieles americanas, encontrando valores concordantes con los hallados por Browne (13), quien usó métodos polarimétricos especiales para la determinación de levulosa. (Encontraron para la relación Levulosa/glucosa valores que oscilan entre 1,02 y 1,70. Además determinaron para mieles típicas que la oxidación de la levulosa es aproximadamente constante y alrededor de 1,2 %.

Cadwell, Doebbeling y Manian (14) describieron un semi-micro-método iodométrico para la determinación de maltosa formada por acción amilolítica.

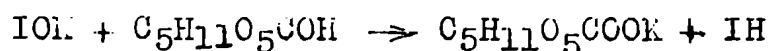
Finalmente, cabe mencionar el método de la Cloramina-T, de Hinton y Macara (15) para la determinación de aldosas.

Se sabe que una solución de cloramina-T actúa como el hipoclorito de sodio, produciendo hipiodito y una cierta cantidad de yodo libre cuando se le añade un exceso de ioduro de potasio. Se cree que la reacción tiene lugar a través de una hidrólisis de la

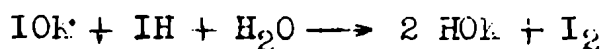
cloramina-T formando hipoclorito, según las siguientes reacciones:



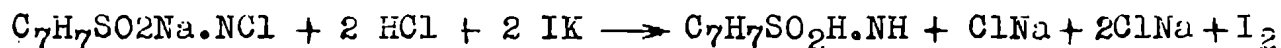
El hipoclorito formado puede ser usado para la oxidación de las aldehídos:



y una pequeña porción se descompone liberando iodo antes de acidificar:



Después de acidificar, el iodo equivalente de la cloramina-T no alterada y el proveniente del hipoclorito remanente, puede ser determinado por titulación con tiosulfato de sodio:



Esta oxidación procede más lentamente que la oxidación alcalina con iodo y puede ser, por consiguiente, mejor controlada.

El procedimiento descrito es el siguiente: Colocar en un Erlenmeyer de 250 ml 20 á 25 ml de solución conteniendo alrededor de 0.1 grano de azúcar; añadir 20 ml de solución de yoduro de potasio al 10 % y 0,8 ml de hidróxido de sodio seguidos por 50ml de solución de cloramina-T 0,05 N (7,04 g por litro) recientemente preparada y mantenida protegida de la luz. Tapar el frasco con un tapón de goma y dejar estar por 1,30 horas en un baño de agua a 17,5°C; acidificar con 10 ml de HCl 2 N y titular enseguida con $S_2O_3Na_2$ 0,05 N.

1,410	g ₂	de	iodo	corresponden	a	1	g	de	glucosa
0,706	"	"	"	"	"	"	"	"	lactosa
0,710	"	"	"	"	"	"	"	"	azúo.invertido

El efecto de la sacarosa sobre la oxidación de las aldosas es débil, excepto cuando éstas se encuentran en pequeñas concentraciones. La levulosa, aunque inalterada en solución neutra, bajo las condiciones dadas arriba tiene un equivalente aparente de iodo de 0,007.

Este método fué aplicado por sus autores al análisis de azúcares en leche condensada.



Determinación de levulosa - Métodos especiales

La levulosa puede ser determinada selectivamente destruyendo previamente las aldosas por oxidación con hipiodito y midiendo luego su poder reductor. Los métodos citados por la bibliografía son:

METODO DE KOLTHOFF-KRUISHER. Kolthoff (16) describió un proceso basado en el principio anterior y Kruisher (17) reconociendo las ventajas del método para el análisis de azúcares, lo aplicó con gran detalle.

Cuando las aldosas se determinan selectivamente por el método del hipiodito hay siempre posibilidad de que puedan estar presentes otras sustancias, las que también pueden ser oxidadas. Por eso, los únicos azúcares remanentes después del tratamiento deben ser las cetosas, y de éstas la única que se toma en consideración en la práctica usual del análisis de azúcares es la levulosa. La

técnica usada es la siguiente:

Disolver una cantidad conveniente de muestra (conteniendo entre 1,75 y 3,5 g. de sustancia seca) en agua en un matraz de 100 ml; neutralizar la solución y llevar a la marca; de aquí tomar 25 ml con una pipeta y llevarlos a otro matraz de 100 ml; agregar 25 ml de agua y luego 5 ml de HONa 4 N. Luego 16 ml de solución de iodo (13 g de iodo más 15 g de ioduro de potasio en 100 ml); dejar por 5 á 7 minutos y añadir 3 ml de ácido sulfúrico 4 N. Eliminar el exceso de iodo primero con solución de sulfito de sodio al 20 % y luego cuidadosamente con solución de sulfito al 2 % hasta coloración debilmente amarilla; añadir 4 gotas de solución de almidón al 2 % y seguir agregando sulfito hasta decoloración. El tiosulfato de sodio no debe usarse para eliminar el exceso de iodo porque el tetracionato formado reduce las soluciones alcalinas de cobre en la determinación posterior de levulosa.

Añadir hidróxido de sodio hasta reacción debilmente ácida al metil-orange, completar el volumen a 100 y determinar la levulosa en una parte alícuota por el método de Luff-Schoorl (18), como sigue:

Colocar 25 ml del reactivo cúprico (preparado disolviendo 388 gramos de $\text{CO}_3\text{Na}_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ en 300-400 ml de agua tibia, agregando 50 g. de ácido cítrico disueltos en 50 ml de agua y luego una solución de 25 g de sulfato de cobre en alrededor de 100 de agua; la mezcla se deja enfriar y se lleva a 1 litro; después de unos días de reposo se decanta la solución clara, la cual se conserva indefinidamente y no indica autorreducción por ebullición) y 25 ml de solu-

ción de azúcar en un Erlenmeyer de 300 ml; echar unos trozos de piedra pómez y hervir durante 10 minutos con condensador de reflujo; enfriar enseguida en corriente de agua y después de 5 minutos agregar 3 g de ioduro de potasio. Acidificar con 20 ml de ácido clorhídrico al 25 % y agitar hasta que cese el desprendimiento gaseoso. La espuma remanente puede eliminarse con unas gotas de éter. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio N/10 usando como indicador solución de almidón al 2 %.

Bajo estas condiciones la levulosa se recupera en la proporción de 98,3 %. La glucosa, sacarosa y lactosa no dejan indicio de efecto reductor residual y la glucosa comercial solamente trazas. Aplicado a mieles genuinas se encontró un ligero aumento de la relación de levulosa a glucosa sobre el encontrado por el método de Auerbach y Bodländer.

METODO DE KLASING (19). Con el objeto de disminuir el poder oxidante de la levulosa, Klasing usó en vez de solución de hidróxido de sodio, una solución buffer preparada disolviendo 25 g de carbonato de sodio anhidro en alrededor de 600 ml de agua en un frasco de 1 litro, añadiendo gradualmente con agitación 95 g de bicarbonato de sodio finamente pulverizado y llevando hasta la marca.

La técnica usada es la siguiente: 20 ml de solución de azúcares (conteniendo menos de 400 mg de levulosa y 100 á 150 mg de glucosa) se mezclan con 15 ml de solución de iodo 0,3 N, se añaden 40 ml de la solución buffer; se tapa y se deja durante 1 hora en la obscuridad a 28°. La solución se acidifica con 10 ml de ácido sulfúrico diluído (1:5). La mayor parte del iodo liberado se eli-

mina con sulfito de sodio al 20 % y el resto con sulfito de sodio al 1 %. Se añade solución diluída de hidróxido de sodio hasta reacción neutra al metil-orange, se lleva a volumen 100 y la levulosa se determina en una parte alícuota.

Con mezclas de glucosa y levulosa se encontraron resultados desde 0,67 % por defecto hasta 1,7 % por exceso. Cuando se determina glucosa y levulosa en productos conteniendo grandes cantidades de sacarosa, como en el azúcar de caña, se obtiene un error por exceso debido a que en parte la sacarosa es oxidada por el iodo y el producto de la oxidación reduce la solución alcalina de cobre, y por otro lado, el ácido añadido después del tratamiento con iodo invierte una parte de la sacarosa y el azúcar invertido formado aumenta el resultado de levulosa. Para evitar estos inconvenientes Klasing usó ácido acético al 30 % en lugar de ácido sulfúrico y agregó una titulación en blanco con la misma cantidad de sacarosa que la que está presente en la solución a analizar, restando el resultado del ensayo en blanco al de la levulosa encontrada.

METODO DE SHAEFFER Y SOMOGYI (20). Shaffer y Hartmann (21) idearon un método para la determinación de azúcares en sangre, aplicable al análisis de muestras conteniendo desde 0,07 á 2,2 mg de azúcares reductores. Su aplicación se generalizó a la determinación de azúcares en otras sustancias. El reactivo lo prepararon mezclando sulfato de cobre, ácido tartárico y carbonato de sodio, sustancias estas últimas que producen anhídrido carbónico, siendo entonces la relación carbonato a bicarbonato variable y dependiente de la

cantidad de anhídrido carbónico desprendida; además el contenido iódico de potasio y iodato de potasio en cantidad tal que después de acidificar el reactivo liberara iodo de concentración 0,02 N.

Shaffer y Somogyi (20) estudiaron la influencia de la relación $\text{CO}_3\text{Na}_2:\text{CO}_3\text{HNa}$ sobre el grado de reducción del cobre, encontrando que la reducción era mayor cuanto mayor era la alcalinidad y por consiguiente el tiempo requerido era menor, pero la mayor reducción la lograban con menor alcalinidad cuando el tiempo era suficientemente largo; además, encontraron que la reducción máxima varía inversamente con el logaritmo de la relación de carbonato a bicarbonato.

Indicaron también que el grado de reducción varía con la naturaleza del azúcar y para una solución conteniendo una relación de carbonato a bicarbonato igual a uno, el grado de reducción varía en el orden siguiente: 1) levulosa, 2) glucosa, 3) galactosa y maltosa, 4) lactosa y 5) manosa.

Modificaron el reactivo de Shaffer-Hartmann, usando el siguiente: 25 g de carbonato de sodio anhidro y 25 g de tartrato de sodio y potasio se disuelven en alrededor de 500 ml de agua, añadiendo mientras se agita, 75 ml de una solución al 10 % de sulfato de cobre puro cristalizado a través de un embudo, el pico del cual se encuentra bajo la superficie del líquido; seguidamente se agregan 20 g de bicarbonato de sodio y luego 1 g de ioduro de potasio. Finalmente la solución se pasa a un matraz aforado de 1 litro y se le añaden 240 ml de solución N/10 de iodato de potasio; se lleva a la marca, se mezcla bien, se filtra sobre papel seco y se guarda

en un frasco de vidrio Pyrex. Preparada en estas condiciones la solución da un título en blanco de 24 ml de tiosulfato 0,005 N. Las cantidades de ioduro y iodato de potasio no deben variarse. Además para su mejor conservación es menester preservarla de la luz.

La técnica usada por estos autores es la siguiente: Colocar 5 ml de la solución conteniendo una cantidad de azúcar entre 0,1 y 2,0 mg en un tubo de ensayo Pyrex de 50 ml. y 5 ml del reactivo cúprico, vertiendo éste de modo que arrastre la solución de azúcar que pudo quedar mojando las paredes del tubo; ambas medidas deben hacerse con el máximo de exactitud. Mezclar agitando suavemente, tapar el tubo y colocarlo en un baño de agua hirviente durante 15 minutos. Enfriar en corriente de agua hasta la temperatura de 35°, evitando toda agitación. Añadir 2 ml de una solución conteniendo 2,5 % de ioduro de potasio y 2,5 % de oxalato de potasio y luego 5 ml de ácido sulfúrico N; agitar bien, dejar por 5 minutos con agitación de vez en cuando y luego titular con tiosulfato de sodio 0,005 N. Llevar a cabo paralelamente un ensayo en blanco con 5 ml de agua y 5 ml del reactivo. La diferencia entre el ensayo en blanco y el ensayo real da el equivalente de cobre reducido y de las tablas las cantidades de azúcar correspondientes.

Es éste uno de los métodos más exactos y convenientes para la determinación de azúcares reductores en soluciones puras o en líquidos biológicos. La delicadeza y exactitud obtenida por la titulación iodométrica es tal que el error del análisis depende principalmente de la composición del reactivo cúprico y de las condiciones que afectan la sensibilidad y reproducibilidad durante la

oxidación del azúcar.

Entre los métodos especiales para levulosa, que no utilizan la oxidación iodométrica previa de las aldosas, merecen citarse el METODO DE JACKSON Y MATEWS (22). Biourge (23) observó que la levulosa tiene en presencia del reactivo de Ost (250 g de carbonato de potasio anhidro más 100 g de bicarbonato de potasio pulverizado en 700 ml de agua, más solución conteniendo 25,3 g de sulfato de cobre cristalizado en 150 ml de agua, todo llevado a 1 litro) a 50°C, un poder reductor 10 veces mayor que la glucosa. Nyns (24) determinó el equivalente de cobre de la levulosa dentro de un amplio margen de concentraciones calentando mezclas de azúcares a 48,6°C durante dos horas y media.

Jackson y Matews modificaron el procedimiento de Nyns acortando el tiempo de reacción y llevando la temperatura a 55°C y usaron la técnica siguiente: Colocar 50 ml del reactivo de Ost en un Erlenmeyer de 150 ml; añadir con pipeta un volumen exactamente medido de solución de azúcar, conteniendo no más de 92 mg de levulosa o su equivalente de mezcla de glucosa y levulosa, recordando que en las condiciones de la experiencia la glucosa tiene un poder reductor doce veces menor que la levulosa. Añadir agua hasta 70 ml y sumergir en un baño de agua a 55°C, manteniendo así exactamente 75 minutos y agitando cada 10-15 minutos. Filtrar a través de asbesto en un crisol de Gooch, lavar y pasar el precipitado con el asbesto a un vaso de 400 ml; añadir 5 ó 10 ml de agua y desintegrar el asbesto; agregar luego un volumen de dicromato de potasio 0,1573 N en exceso del necesario para oxidar todo el óxido cuproso formado.

En el Erlemmeyer colocar 50 ml de HCl (1:1) y pasarlos al vaso agitando hasta disolver todo el óxido cuproso; lavar el Erlemmeyer recibiendo los lavados en el vaso; sumergir el crisol en la solución ácida para disolver todo el óxido cuproso remanente en él y sacarlo con una varilla de vidrio lavándolo sobre el vaso. Diluir hasta 250 ml la solución obtenida y titular el exceso de dicromato de potasio con sulfato ferroso (61,8 g de $SO_4Fe_2 \cdot 6H_2O$ mas 5 ml de ácido sulfúrico en 1 litro de agua) ya sea por el método electrométrico o con indicador interno ortofenantrolina. El volumen de sulfato ferroso gastado en la titulación multiplicado por 10 da el número de mg de cobre reducidos y por medio de las tablas se encuentra la levulosa correspondiente.

Para mezclas de glucosa y levulosa es necesario introducir un factor de corrección para el poder reductor de la glucosa, pues para cualquier margen de concentraciones 12,4 mg de glucosa dan el mismo poder reductor que 1 mg de levulosa. En mezclas de composición desconocida es menester llevar a cabo además una titulación del total de azúcares reductores por el método de Lane y Eynon (25) (determinación del volumen de solución de azúcares necesario para reducir completamente un determinado volumen de solución alcalina de cobre con indicador interno azul de metileno). De las dos titulaciones por medio de tablas, se obtiene finalmente la relación de levulosa a azúcares totales.

METODO DE SILBER.- Sieben en 1864 propuso un método para la determinación de levulosa basado en la destrucción de ésta cuando se calienta con ácido clorhídrico diluido. El método se aplicó a mie-

les, jarabes y productos que contengan glucosa, la cual como otras aldosas, es menos susceptible a la acción destructiva de los ácidos, tanto que la diferencia entre el poder reductor de una solución antes y después del tratamiento ácido se tomó como un índice de la cantidad de levulosa presente. Sin embargo, otros investigadores (27) encontraron que bajo las condiciones especificadas por Sieben, la levulosa no se destruye completamente, mientras que la glucosa es parcialmente atacada y la magnitud de estos efectos varía con la relación de los dos azúcares presentes. Tratando de salvar estas dificultades, Lucius (28) cambió la fuerza del ácido y el tiempo de calentamiento, estimando el remanente de glucosa por polarimetría, pero ésta y otras tentativas de modificar el método en este sentido no dieron resultados satisfactorios.

METODO DE NORMAN Y MARSHALL PARA EL ANALISIS DE MEZCLAS DE GLUCOSA Y LEVULOSA CON ESPECIAL APLICACION A LA MIEL (29)

Los métodos citados anteriormente, aplicados a la determinación de glucosa y levulosa en miel, no son lo suficientemente exactos porque en casi todos los casos se dosa un azúcar solamente y el total de azúcares reductores, y por diferencia se tiene el otro componente, de manera que el error en la determinación de uno produce un error en la determinación del otro en sentido opuesto y por consiguiente el resultado de la relación glucosa/levulosa no es correcto.

Además no se considera la posibilidad de la interferencia mutua, tomándose el comportamiento de una mezcla como función aditiva de la de los componentes aislados, lo cual no es exacto; por otra parte, el cálculo de la composición de mezclas de azúcares no puede ser hecho con el uso de factores determinados para cada azúcar en particular.

Estos autores buscaron un procedimiento mediante el cual se puede determinar directamente la glucosa y la levulosa teniendo en cuenta la interferencia mutua.

En la determinación de glucosa encontraron como el más conveniente el método de Lothrop y Hclmes para glucosa en miel (pág. 8).

Confirmaron los últimos trabajos que indicaban que para obtener resultados cuantitativos era necesario cantidades de iodo mayores que el doble de la requerida para la oxidación y un exceso de hidróxido de sodio para neutralizar todo el ácido formado, y la influencia de la temperatura en la reacción, variando las cantidades

de glucosa y levulosa y trabajando entre 15°C y 25°C (Tabla I)

Tabla I

Efecto de la temperatura sobre la oxidación de la glucosa con hipiodito

Glucosa tomada mg.	Porcentaje de oxidación de glucosa			
	15°C	18°C	20,5°C	25°C
100	98,9	100,0	97,4	94,1
90	99,7	99,7	99,8	97,2
80	99,7	99,5	100,3	99,1
70	100,0	99,8	100,9	100,0
60	100,4	100,0	101,5	100,8
50	99,7	99,6	101,3	101,5

Dentro del margen de concentraciones tomadas y a una temperatura de 15° á 18°C, el porcentaje de glucosa recuperado es aproximadamente constante y cercano al 100 %. Bajo las mismas condiciones la levulosa también sufre una ligera oxidación que depende de la cantidad presente (tabla II).

Tabla II

Efecto de la temperatura sobre la oxidación de la levulosa con hipiodito

Levulosa tomada mg.	ml. de iodo 0,05 N absorbidos		
	16°C	18°C	20,5°C
99,7	0,44	0,42	0,46
89,7	0,39	0,36	0,40
79,8	0,34	0,33	0,41
69,8	0,31	0,31	0,41
59,8	0,24	0,26	0,36
49,9	0,22	0,21	0,33

Para la determinación de la levulosa usaron el micrométodo de Shaffer y Somogyi (pág.15). En este caso debían determinarse

concentraciones más altas que las dadas originariamente por los autores. Valores para cantidades de levulosa entre 0,1 y 2 mg se pueden ver en la tabla III. Para pequeñas cantidades existe concordancia con las dadas por Shaffer y Somogyi.

Tabla III

Titulación de levulosa (Reactivo de Shaffer-Somogyi)

Levulosa tomada mg	Diferencias de titulación ml de S ₂ O ₃ Na ₂ 0,005 N
1,99	17,57
1,79	15,66
1,59	13,95
1,40	12,20
1,19	10,37
1,00	8,55
0,80	6,92
0,60	5,15
0,40	3,34
0,20	1,70
0,10	0,85

Como el poder reductor de la levulosa es afectado por la presencia de ioduro (30) y puesto que optaron usar el método de Shaffer-Somogyi después de alejar la glucosa por oxidación con hipoclorito, establecieron nuevos valores en presencia de la cantidad de ioduro que podría encontrarse como resultado de este pretratamiento (tabla IV).

Tabla IV

Diferencias de titulación de levulosa en presencia de ioduro añadido

Levulosa tomada mg	Dif. de titulación ml de S ₂ O ₃ Na ₂ 0,005 N
1,99	16,94
1,79	15,21
1,59	13,54
1,40	11,76
1,19	11,04
1,00	8,19

Constataron luego la influencia de la temperatura sobre la oxidación de la levulosa por el hipiodito (tabla V); encontraron que de 16º á 18º la oxidación de la levulosa es leve. A 20,5º y con las concentraciones más elevadas el porcentaje recuperado fué de 99 % como mínimo. Por consiguiente este procedimiento puede considerarse satisfactorio para la mayoría de sus aplicaciones.

Tabla V

Recuperación de levulosa después de la oxidación con hipiodito a varias temperaturas

Levulosa tomada mg	Porcentaje recuperado		
	16º C	18º C	20,5º C
100	99,0	99,3	99,0
90	98,6	98,6	99,9
80	99,7	99,1	99,4
70	98,6	99,3	98,2
60	99,6	99,6	97,5
50	98,5	99,2	97,5

Los análisis de mezclas conocidas de glucosa y levulosa indican que el porcentaje recuperado de cada azúcar, varía de acuerdo a su concentración y a la proporción relativa en que ellos se encuentran. Estos autores determinaron el comportamiento de mezclas de azúcares en proporciones variadas y en una serie de concentraciones convenientes para usar para miel. Los resultados de la oxidación con hipiodito, expresados en ml de iodo 0,05 N utilizados, se pueden ver en la tabla siguiente.

Tabla VI

Oxidación de mezclas de glucosa y levulosa con hipiodito

Iodo 0,05 N absorbido on presencia de

Glucosa	80 mg de levulosa	70 mg de levulosa	60 mg de levulosa	50 mg de levulosa	40 mg de levulosa	Promedio
mg	ml	ml	ml	ml	ml	ml
80	18,22	18,20	18,16	18,07	18,10	18,15
70	16,06	15,97	16,00	15,96	15,96	15,99
60	13,80	13,78	13,74	13,76	13,76	13,75
50	11,58	11,54	11,56	11,38	11,38	11,50
40	9,34	9,31	9,28	9,19	9,19	9,27

Dentro de esta serie, la cantidad de iodo utilizada para pesos iguales de glucosa en presencia de cantidades variables de levulosa, no se aparta del valor medio, siempre que las cantidades de azúcar tratadas no sean mayores de 0,08 g.

De los valores de la tabla VI dedujeron la siguiente ecuación:

$$Y_g = 4,484.a - 1,58 \quad (i)$$

donde a representa el número de ml de iodo 0,05 N absorbidos, e Y_g los mg de glucosa encontrados. Por ejemplo, suponiendo haber gastado 13,75 ml de iodo (promedio-tercer renglón-tabla VI) para oxidar 60 mg de glucosa en presencia de 70 mg de levulosa; aplicando la ecuación tendremos:

$$Y_g = 4,484 \times 13,75 - 1,58 = 60$$

Analogamente titularon mezclas de levulosa y glucosa por el procedimiento de Shaffer-Somogyi, previamente sometidas a la oxidación con hipiodito, encontrando los siguientes valores:

Tabla VII

Titulación de glucosa y levulosa por el método de Shaffer-Somogyi
previamente sometidas a la oxidación con hipiodito

Levulosa oxidada	lev. por titulac.	Diferencias de titulación					Promedio
		80 mg gluc. ml	70 mg gluc. ml	60 mg gluc. ml	50 mg gluc. ml	40 mg gluc. ml	
80	1,6	13,54	13,42	13,40	13,49	13,47	13,46
70	1,4	11,90	11,84	11,73	11,61	11,62	11,74
60	1,2	9,97	9,83	9,71	9,71	9,87	9,83
50	1,0	8,16	8,17	8,12	8,11	8,05	8,12
40	0,8	6,38	6,38	6,38	6,39	6,39	6,38

De estos valores dedujeron la siguiente ecuación:

$$Yf = 0,112.b + 0,087 \quad (ii)$$

donde b representa el número de ml de tiosulfato de sodio 0,005 N obtenido por diferencia entre el ensayo en blanco y el real, e Yf los mg de levulosa presentes. Por ejemplo, suponiendo que la diferencia de titulaciones sea de 9,83 ml (tercer renglón-tabla VII); aplicando la ecuación tendremos:

$$Yf = 0,112 \times 9,83 + 0,087 = 1,2$$

Mediante el uso de estas ecuaciones, válidas solamente dentro de límites específicos (0,08 á 0,04 g de cada azúcar) y según la técnica que se describe más adelante, los autores encontraron resultados ampliamente satisfactorios para mieles.

Por último determinaron el efecto de la presencia de sacarosa en mezclas de glucosa y levulosa. A pesar de ser la glucosa y la levulosa los principales azúcares presentes en la miel, pueden encontrarse también cantidades pequeñas y variables de sacarosa, la cual puede ser ligeramente oxidada por el hipiodito.

Si la cantidad de sacarosa presente en la miel no excede del

3 % su influencia es despreciable, como lo indica la tabla VIII. Cantidades mayores pueden tener influencia.

Tabla VIII

Influencia de la sacarosa en la determinación de glucosa y levulosa en miel

Concentración relativa de azúcares			Titulación de glucosa	Titulación de levulosa
Glucosa	Levulosa	Sacarosa	Iodo 0,05 N	Iodo 0,005 N
%	%	%	ml	ml
40	40	0	17,85	13,38
40	40	2,00	17,85	13,38
40	40	3,00	17,86	13,38
40	40	0	17,90	13,38
30	30	0,75	13,47	9,77
30	30	1,50	13,45	9,76
30	30	2,25	13,46	9,77
30	30	0	13,55	9,77
40	20	1,00	17,55	13,17
40	20	2,00	17,60	13,18
40	20	3,00	17,55	13,18
40	20	0	17,55	13,20
20	40	0,50	9,19	6,30
20	40	1,00	9,16	6,30
20	40	1,50	9,16	6,30
20	40		9,15	6,29

La técnica que usaron para todas las determinaciones se detalla a continuación y está especialmente adaptada al análisis de miel.

Clarificación y eliminación de proteínas. Disolver 2 g de la miel en agua destilada; agregar 2 ml de crema de alúmina, llevar a 200 ml con agua y filtrar. Rechazar los primeros 30 ó 40 ml del filtrado. Del filtrado siguiente medir 75 ml, colocarlos en un matraz aforado de 100 ml y llevar a la marca con agua.

Determinación de glucosa. A 20 ml de la solución anterior colocados en un Erlenmeyer de 250 ml, agregar 40 ml de solución 0,05 N de iodo y 25 ml de hidróxido de sodio 0,1 N. Tapar y dejar por 10

minutos a 15°-18°C. Acidificar con 5 ml de ácido sulfúrico N y titular con tiosulfato de sodio 0,05 N.

Deducir el título del de un ensayo en blanco llevado a cabo con 20 ml de agua destilada y calcular la glucosa con la ecuación (i)

Luego para hallar el por ciento de glucosa en la miel se aplica la siguiente ecuación:

$$\% = \frac{Yg \cdot 4}{3 \cdot W} \quad (1)$$

en la cual W es el peso en gramos de miel en la solución original. Si W son 2 gramos y aplicamos esta ecuación al caso de $Yg = 60$ mg, se tiene:

$$\frac{60 \cdot 4}{3 \cdot 2} = 40 \%$$

es decir, si la solución final tiene por ejemplo 60 mg de glucosa y 70 mg de levulosa, el por ciento de glucosa es 40.

La ecuación (1) se explica así: los 2 gramos de miel, según la técnica, se diluyen en 200 ml; de aquí se toman 75 ml y se llevan a 100; de aquí se toman 20 ml y se gastan 13,75 ml de iodo, que dan $Yg = 60$ mg.

Entonces si en 20 ml hay 60 mg, en los 100 de la solución final habrá 300 mg, es decir, también en los 75 ml de solución original; y en los 200 ml de solución original habrá 800 mg, o sea, en los 2 gramos de miel hay 800 mg de glucosa. Luego en 100 gramos habrá 40 gramos.

Determinación de levulosa. Oxidar y acidificar como para glucosa, pero en un matraz aforado de 250 ml. Reducir el iodo liberado por cuidadosa titulación con solución de sulfito de sodio al 1%, usando dos gotas de almidón soluble al 1 % como indicador. Neutralizar

con hidróxido de sodio N usando como indicador bromocresol verde y llevar a 250 ml con agua. Pasar 5 ml de la solución a un tubo de ensayo Pyrex de 50 ml. Agregar 5 ml de reactivo cúprico de Shaffer-Somogyi; tapar, calentar en un baño de agua hirviente durante 15 minutos y enfriar evitando la menor agitación para prevenir la reoxidación del óxido cuproso formado. Añadir 2 ml de una solución conteniendo 2,5 % de ioduro de potasio y 2,5 % de oxalato de potasio y luego 5 ml de ácido sulfúrico N; agitar bien, dejar por 5 minutos con agitación de vez en cuando y luego titular con tiosulfato de sodio 0,005 N.

Deducir el título haciendo paralelamente un ensayo en blanco con agua y calcular la levulosa con la ecuación (ii).

Para calcular el porcentaje de levulosa en la miel se aplica la siguiente ecuación:

$$\% = \frac{Yf}{3} \cdot \frac{200}{W} \quad (2)$$

donde W son los gramos de miel contenidos en la solución original. La deducción de esta ecuación es análoga a la número (2) aplicada para glucosa, con la diferencia de que para la titulación en la solución final se tomó la 50 avas partes de la misma.

La eliminación preliminar de proteínas es esencial para la determinación de azúcares reductores en miel por este procedimiento, puesto que las proteínas son afectadas por el hipiodito y por esta causa la glucosa resulta demasiado alta. La dextrina en la miel no presenta poder reductor y por consiguiente cuando está presente no afecta la titulación de la glucosa.

Resultados obtenidos con este método para mieles inglesas, por sus autores, pueden verse en la página 37.

PARTE EXPERIMENTAL

Considerando que el método aplicado por Norman y Marshall a la determinación selectiva de glucosa y levulosa en mieles, es uno de los más sencillos y exactos, se llevó a cabo el presente trabajo siguiendo la técnica de los mencionados autores.

A los efectos de verificar la exactitud de los resultados obtenidos y como ensayos preliminares para su aplicación ulterior al análisis de mieles genuinas argentinas, se prepararon mezclas de glucosa y levulosa puras, determinándose en cada caso los porcentajes recuperados. Los valores encontrados figuran en las tablas siguientes.

Tabla I

Recuperación de glucosa en presencia de levulosa

Glucosa tomada	Levulosa agregada	S2O3Na2 0,05 N	Glucosa recuperada	Porcentaje recuperado
mg	mg	ml	mg	%
40	60	9,42	40,6	101,5
50	50	11,43	49,7	99,4
75	40	16,85	74,1	98,8

Tabla II

Recuperación de levulosa en presencia de glucosa

Levulosa tomada	Glucosa agregada	S2O3Na2 0,005 N	Levulosa recuperada	Porcentaje recuperado
mg	mg	ml	mg	%
50	70	7,90	48,6	97,2
70	50	11,47	68,6	98,0
75	75	12,05	76,2	101,5

Las mezclas de glucosa y levulosa se hicieron pesando 250 mg de los azúcares respectivos, disolviéndolos en 250 ml de agua y tomando los ml de solución correspondientes; en todos los casos las soluciones de azúcares se prepararon instantes antes de ser analizadas.

Los valores que figuran en la tercera columna representan los ml de solución de tiosulfato de sodio obtenidos por diferencia entre el ensayo en blanco y el ensayo real y corresponden al valor a de la ecuación (i) para glucosa, y al valor b de la ecuación (ii) para levulosa (pág. 25 y 26), los cuales aplicados en las ecuaciones respectivas dan los valores de la cuarta columna.

Además, tomando como soporte a mieles, se efectuaron ensayos de recuperación, agregando a la solución final a titular, cantidades variables de los azúcares puros, así: primero se determinó el azúcar (glucosa o levulosa) en la solución final de miel, considerando exacta esta determinación; luego se agregó el azúcar y se determinó el total. La diferencia de las dos determinaciones da el porcentaje recuperado. Los valores encontrados así para glucosa se indican en la tabla III y para levulosa en la tabla IV. Se indican en la tercera columna los mg de miel en la solución final a titular; en la cuarta, el azúcar contenido en ella y calculado de la titulación; en la quinta, el azúcar agregado a la solución de miel; los valores de las titulaciones figuran en la columna siguiente, que aplicados a las ecuaciones respectivas dan las cantidades recuperadas que se encuentran en la séptima columna.

En todos los casos las titulaciones se hicieron por duplica

do, tomándose el promedio de ellas:

Tabla III

Recuperación de glucosa añadida a soluciones de miel

Miel Pesada Nº	Miel on 20 ml _g mg	Glucosa en 20 ml mg	Glucosa agregada mg	S2O3Na2 0,05 N ml	Glucosa		Recupe- rado %	
					Total	Recup.		
1	2,0838	155,5	51,6	-	11,86	51,6	51,6	100,0
"	"	"	"	37,5	20,22	89,1	37,5	100,0
2	2,0408	153,0	53,7	-	12,32	53,7	53,7	100,0
"	"	"	"	18,7	16,40	72,5	18,8	100,4
"	"	"	"	37,5	20,44	90,1	36,4	97,1
3	2,2290	167,2	56,7	-	13,00	56,7	56,7	100,0
"	"	"	"	20,0	17,60	77,3	20,6	103,0
"	"	"	"	40,0	22,00	97,0	40,3	100,7
44	2,0220	151,6	57,7	-	13,23	57,7	57,7	100,0
"	"	"	"	30,0	19,86	87,5	29,8	99,3

Tabla IV

Recuperación de levulosa añadida a soluciones de miel

Miel	Pesada	Miel en	Levulosa	Levulosa	S2O3Na2	Levulosa		Recupe-
Nº	g	20 ml	en 20 ml	agregada	0,005 N	Total	Recup.	rado
		mg	mg	mg	ml	mg	mg	%
1	2,1066	157,9	60,1	-	9,95	60,1	60,1	100,0
"	"	"	"	20,0	13,55	80,2	20,1	100,5
"	"	"	"	40,0	17,10	100,1	40,0	100,0
2	2,0690	155,2	59,0	-	9,75	59,0	59,0	100,0
"	"	"	"	30,0	15,00	88,4	29,4	98,0
"	"	"	"	40,0	17,00	99,5	40,5	101,2
3	2,0391	152,9	58,1	-	9,60	58,1	58,1	100,0
"	"	"	"	25,0	14,12	83,4	25,3	101,2
4	2,3182	173,8	66,5	-	11,10	66,5	66,5	100,0
"	"	"	"	30,0	16,35	95,9	29,4	98,0

---0---

Siendo los resultados obtenidos satisfactorios, se procedió a la determinación de glucosa y levulosa en mieles argentinas de distintas procedencias, pero en su mayoría de la Provincia de Buenos por ser la zona de mayor producción. Las muestras fueron facilitadas por la Dirección de Enseñanza Agrícola del Ministerio de Agricultura y por la Asociación de Criadores de Aves, Conejos y Abejas, entidades ambas que por su carácter aseguran la fidelidad de su origen y su genuinidad. Las mieles fueron cosechadas en su totalidad entre enero y mayo del corriente año, extractadas y sin

pasteurizar remitidas para su análisis. Algunas de ellas se recibieron cristalizadas y otras parcialmente; en tales casos se refundieron a la temperatura de 40°C hasta conseguir completa homogeneización.

Los resultados obtenidos figuran en la tabla V. En la primera columna se indica la procedencia de la miel; en la segunda, el peso de la misma en la solución original (W en las ecuaciones (1) y (2), pág. 28 y 29); la diferencia entre el ensayo en blanco y el real figura en la tercera columna, en el caso de la glucosa es la a de la ecuación (i) y en el caso de la levulosa es la b de la ecuación (ii). Se puede ver en el cuadro, que en algunos casos partiendo de una misma pesada se determinó glucosa y levulosa; en otros, se partió de dos pesadas distintas; a los efectos de la exactitud de los resultados este detalle no tiene importancia y sólo se consigna para aclarar su interpretación.

Tabla V

Resultados para la relación Glucosa/Levulosa en mieles argentinas

Provincia de Buenos Aires

N°	Origen	G L U C O S A			L E V U L O S A			Azúc. total	Relación G/L
		Feso	S202Na2	Glucosa	Feso	S203Na2	Levulosa		
		g	ml	(G)	g	ml	(L)		
			0,05 N	%		0,005 N	%	%	
1	Pilar	3,2166	18,89	34,5	3,2166	16,65	40,4	74,9	1/1,17
2	M.Faz	1,5616	8,45	31,0	1,9594	9,80	40,3	71,3	1/1,30
3	M.Faz	1,8166	10,32	33,0	1,8166	9,15	40,8	73,8	1/1,23
4	M.Faz	2,0992	12,06	32,7	2,0992	10,44	39,9	72,6	1/1,22
5	M.Paz	2,0282	11,55	33,0	2,0692	10,15	39,4	72,4	1/1,19
6	M.Paz	1,9104	9,83	33,0	2,1650	10,36	38,4	71,4	1/1,16
7	Dolo- res	2,1926	12,83	34,3	2,2801	10,54	37,7	72,0	1/1,10
8	Dolo- res	1,9652	11,81	34,8	1,9652	9,61	39,1	73,9	1/1,12
9	Uribe larrea	1,9812	11,47	33,6	2,0588	10,15	39,6	73,2	1/1,18
10	Uribe larrea	2,1110	11,66	32,0	2,1110	10,78	40,9	72,9	1/1,28
11	Cnel. Vidal	2,2616	12,69	32,6	2,0356	9,76	38,6	71,2	1/1,18
12	"	1,9460	11,2	33,3	1,9990	9,86	39,7	73,0	1/1,19
13	"	1,9518	10,78	31,9	1,9624	9,66	39,7	71,6	1/1,24
14	Vte. Casarès	2,0610	11,64	32,8	2,0016	10,44	41,8	74,6	1/1,27
15	Ola- varría	2,0766	12,27	34,3	1,4246	7,24	42,3	76,6	1/1,23
16	Tandil	2,0314	11,44	32,6	2,0314	10,16	39,8	72,4	1/1,22
17	Gral. Rodríguez	2,3698	13,30	32,6	2,3698	11,24	37,8	70,4	1/1,15
18	Del Valle	1,9922	12,55	36,8	1,9604	9,8	39,9	76,7	1/1,08
19	Arre- cifes	1,9808	11,05	32,3	1,9982	10,10	38,1	70,4	1/1,18

Provincia de Entre Ríos

Nº	Origen	G L U C O S A			L E V U L O S A			Azúo. total	Relación G/L
		Peso g	S2O3Na2 0,05 N ml	Glucosa (G) %	Peso g	S2O3Na2 0,005 N ml	Levulosa (L) %		
20	Las De licias	2,3054	13,71	34,6	2,1645	11,00	40,9	75,5	1/1,18
21	Colón	2,1298	12,46	35,0	2,1298	10,42	39,2	74,2	1/1,12
22	Victo ria	2,0830	14,45	31,8	2,0830	10,52	39,7	71,5	1/1,24

Provincia de Córdoba

23	Córdo ba	2,0608	12,18	34,6	2,0584	10,00	39,1	73,7	1/1,13
24	Córdo ba	2,0540	12,02	35,0	2,1000	13,81	39,8	74,8	1/1,13
25	Bell Ville	2,0516	12,80	36,2	2,0516	10,60	41,4	77,6	1/1,14
26	Bell Ville	2,0060	12,37	35,8	2,0060	10,18	40,8	76,6	1/1,14

Provincia de Santa Fe

27	Casil da	2,0552	12,15	34,3	2,0552	10,44	40,8	75,1	1/1,19
----	-------------	--------	-------	------	--------	-------	------	------	--------

Provincia de San Juan

28	San Juan	2,1358	13,27	36,1	2,1358	10,76	40,4	76,5	1/1,12
----	-------------	--------	-------	------	--------	-------	------	------	--------

Gobernación de Misiones

29	Posa- das	2,5472	13,93	32,7	2,0500	10,56	40,2	72,9	1/1,23
----	--------------	--------	-------	------	--------	-------	------	------	--------

---o---

Finalmente, a título comparativo los resultados obtenidos por Norman y Marshall para la relación glucosa/levulosa en 13 muestras de mieles inglesas.

Resultados para la relación Glucosa/Levulosa en mieles inglesas encontrados por Norman y Marshall

Miel Nº	Glucosa (G) %	Levulosa (L) %	Azúcares Totales %	Relación G/L
1	36,8	37,8	74,6	1/1,02
2	36,2	36,1	72,3	1/1,00
3	36,2	41,9	78,1	1/1,15
4	36,8	42,3	79,1	1/1,15
5	34,6	38,6	73,2	1/1,12
6	32,5	39,1	71,6	1/1,20
7	35,9	39,0	74,9	1/1,08
8	36,0	39,7	75,7	1/1,10
9	35,0	39,6	74,6	1/1,13
10	30,0	44,4	74,4	1/1,47
11	34,0	40,3	74,3	1/1,18
12	34,4	41,9	76,3	1/1,22
13	31,7	37,0	68,7	1/1,10

Como puede observarse, los resultados para la relación glucosa/levulosa en mieles inglesas varían entre los valores extremos 1/1,00 y 1/1,47, oscilando por lo general entre 1/1,10 y 1/1,20.

CONCLUSIONES

- 1º) Se ha hecho una revisión bibliográfica de los métodos hasta ahora señalados para la determinación de aldosas en presencia de otros azúcares y de levulosa, por vía química.
- 2º) La técnica señalada por Norman y Marshall para la determinación de glucosa y levulosa en mieles fué sometida a ensayos de controlador, demostrándose mediante valores de recuperación que es correcta. Cuidadosamente practicada se obtienen muy buenos resultados.
- 3º) Se han determinado los valores de la relación glucosa/levulosa en 29 muestras de mieles argentinas procedentes de zonas muy diversas. Los valores así hallados oscilan entre un mínimo de 1/1,08 y máximo de 1/1,30.
- 4º) En general no se observa un valor diferenciable para ninguna de las mieles analizadas.
- 5º) En productos argentinos, la determinación de la relación glucosa/levulosa, es un índice de positivo valor en la investigación de fraudes por agregado de glucosa. Esta afirmación cobra valor en vista del poco margen de variación observado en los resultados de la relación glucosa/levulosa, y también por haber sido analizados los productos de las principales zonas de producción.

F O E N . B A .
B I B L I O G R A F I A

- (1) G.Romijn, Z. Anal. Chem. 36, 18, 347 (1897)
- (2) G.M.Kline y S.F.Acree, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 2, 413 (1930)
- (3) R.Willstätter y G.Schudel, Ber. deut. Chem. Ges., 51, 780 (1918)
- (4) Kolthoff, Z. Untersuch Nahr. u. Genussm., 45, 131 (1923)
- (5) N.F.Goebel, J. Biol. Chem., 72, 801 (1927)
- (6) Auerbach y Bodländer, Z. Angew. Chem., 36, 602 (1923); Z. Un-
tersuch. Nahr. u. Genussm., 47, 233 (1925)
- (7) Donwes Dekker, Arch. Suikerind., 36, III, 699 (1928)
- (8) C.S.Slator y S.F.Acree, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 2, 274(1930)
- (9) Mallen, Analyst, 57; 244 (1932)
- (10) H.S.Miller, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 9, 37 (1937)
- (11) R.E.Lothrop y R.L.Holmes, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 3, 334
(1931)
- (12) L.S.Munson y P.H.Walker, J. Am. Chem. Soc., 28, 663 (1906)
- (13) C.A.Browne, U.S. Bur. Chem., Bull 110, p.38 (1906)
- (14) Caldwell, Doebbeling y Manian, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 8,
181 (1936)
- (15) C.L.Hinton y T.Macara, Analyst, 52, 669 (1927)
- (16) Kolthoff, Z. Untersuch. Nahr. u. Genussm., 45, 146 (1923)
- (17) Kruisher, Z. Untersuch. Lebensm., 58, 261 (1929)
- (18) G.Luff y N.Schoorl, Int. Sugar J., 39, 1s-40s (1937)
- (19) Klasing, Arch. Suikerind, 38,I; 339,III, 1109 (1930)
- (20) P.A.Shaffer y A.F.Hartmann, J. Biol. Chem., 45, 377 (1921)
- (21) P.A.Shaffer y M.Somogyi, J. Biol. Chem., 100, 695 (1933)
- (22) R.P.Jackson y J.A.Matews, B.S. J. Research, 8, 424 (1932)

- (23) Ph. Biourge, Bul. assn. étud. école supér. brasserie univ. Louvain (1898)
- (24) Nyns, Sucre Belge 44, 210 (1924), Chem. Abst. 19, 1255 (1935)
- (25) J.H.Lane y L.Eynon, J. Soc. Chem. Ind. 42, 32T, 143T, 463T (1923); 44, 150T (1925); 46, 434T (1927); 50, 85T (1931)
- (27) Herzfeld, Z. Ver. deut. Zucker-Ind., 35, 967 (1885); Wiechmann's "Sugar Analysis", p.91 (1914); Dammüller, Z. deut. Zucker-Ind., 38, 751 (1888)
- (28) Lucius, Z. Untersuch. Nahr. u. Genussm., 38, 177 (1919); 46, 94 (1923); 51, 351 (1926)
- (29) C.R.Marshall y A.G.Norman, Analyst, 63, 315 (1938)
- (30) A.G.Norman, Biochem. J., 10, 1354 (1936); J.E.Van der Plank, Biochem. J., 30, 457 (1936)

—o—

Cabe citar como obras de consulta de suma utilidad:

- a) Polarimetry, Saccharimetry and the Sugars, por F.J.Bates y colaboradores, editado por el U.S. Department of Commerce (1942)
- b) "Sugar Analysis" - Physical and Chemical methods of sugar analysis, por C.A.Browne y F.W.Zerban (1941)