

Tesis de Posgrado

Estudio sobre la determinación de ácido fórmico en alimentos

Moscoso Boedo, Antonio

1946

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:

Moscoso Boedo, Antonio. (1946). Estudio sobre la determinación de ácido fórmico en alimentos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0434_MoscosoBoedo.pdf

Cita tipo Chicago:

Moscoso Boedo, Antonio. "Estudio sobre la determinación de ácido fórmico en alimentos". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1946.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0434_MoscosoBoedo.pdf

FOFNA

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES.

----- 0 -----

Estudio sobre la determinación de ácido fórmico
en alimentos

----- 0 -----

TRABAJO DE TESIS PRESENTADO PARA OPTAR AL TÍTULO
DE DOCTOR EN QUÍMICA
por
ANTONIO MOSCOSO BOEDO.

Tesis: 434

- 1946 -

1954

TRABAJO DE TESIS DIRIGIDO

por el

DOCTOR PEDRO CATTANEO.

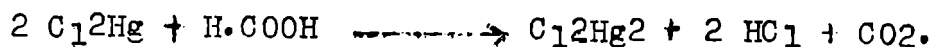
Dejo expresa constancia de mi mayor agradecimiento al Dr. Pedro Cattaneo por su eficaz ayuda en la realización de esta tesis, por sus palabras de aliento y espíritu de constancia ejemplares.

Al doctor Abel Sanchez Díaz (Oficina Química Municipal) por haberme facilitado el laboratorio para la realización del presente trabajo, a la doctora Germaine Karman por la eficaz colaboración prestada en algunas etapas y al Sr. G.K. Klobassa por la realización de los aparatos de vidrio, como así también a la firma de "Al Grano de Café" que facilitó las distintas muestras de carácter industrial, mi sincero agradecimiento.

ANTECEDENTES SOBRE LA DETERMINACION DE ACIDO FORMICO

EN ALIMENTOS

Fincke(1) aparece como el primero en señalar las precauciones necesarias para determinar el contenido en ácido fórmico de productos alimenticios. Señaló que su determinación por oxidación con bicloruro de mercurio, de acuerdo al siguiente proceso:



es correcta, pero que sustancias orgánicas (como los aldehidos) también reducen al bicloruro de mercurio. Observó también que el mejor modo de evitar interferencias consistía en separar el ácido fórmico por destilación con vapor de agua, afirmando que en esta operación debe acidificarse el producto en examen con un ácido orgánico no volátil. Los aldehidos arrastrables por vapor se eliminan en el proceso de fijación, recogiendo el destilado en una suspensión hirviente de carbonato de calcio (CO_3Ca), que fija los ácidos volátiles y permite el pasaje de los aldehidos. Afirmó también que es necesario recoger 1 lt. de destilado para recuperar el 95% del ácido fórmico en ensayos que contienen de 0,1 a 0,27 gr. de ácido fórmico en 100 ml. En las determinaciones que deban efectuarse sobre soluciones muy ricas en hidratos de carbono, Fincke propone diluir suficientemente para evitar procesos de caramelización, que van acompañados de producción de ácido fórmico o de otras sustancias reductoras volátiles; y en productos conteniendo SO_2 . aconseja la previa transformación en sulfato por oxidación con agua oxigenada.

Posteriormente Fincke(2) determinó el contenido en ácido fórmico de vinagres de vino, encontrándolo en la totalidad de las muestras analizadas en la proporción de aproximadamente 20 mg. por lt., y en ácido acético obtenido por destilación seca de la madera encontró de 4,7 - 12 gr. de ácido fórmico por lt. En estos ensayos ajustó su técnica, pues las pequeñas cantidades a determinar exigían un pequeño volumen de líquido en el dispositivo de arrastre.

Forma

Farnsteiner(3), Heiduschka y Kaufmann(4), y más tarde el mismo Fincke(5), determinaron ácido fórmico en mieles de abeja, afirmando haber encontrado 0,003 a 0,02%, pero no afirmando se tratase con seguridad de ese ácido, ya que los valores hallados podían provenir de pequeñas cantidades de otras sustancias orgánicas volátiles, de ácido fórmico naturalmente presente o de ácido fórmico engendrado durante el proceso de destilación.

Seeker(6)(7) determinó ácido fórmico en mermeladas, jarabes y productos alimenticios similares, encontrando valores inferiores a 0,013%, y en cervezas valores inferiores a 0,004%.

El mismo Seeker(loc.cit.) realizó una serie de ensayos de comprobación del método de Fincke con cantidades conocidas de ácido fórmico, pero variando la concentración de la solución y el volumen de destilado recolectado. A continuación se transcriben los valores obtenidos por Seeker.

Ensayo	Acido fórmico en ensayo(mg)	Cantidad de agua agregada (ml).	Volumen de destilado(cc)	Acido fórmico hallado %
1.	99,2.	100.	200.	52.
2.	99,2.	100.	500.	85.
3.	99,2.	100.	1000.	96.
4.	99,2.	50.	1000.	98.
5.	99,2.	150.	1000.	85.

Posteriormente Seeker(loc.cit) sustituyó la suspensión de carbonato de calcio usada por Fincke en sus determinaciones, por una de carbonato de bario(CO_3Ba) basado en el hecho, por todos conocido, de que el sulfito de bario(SO_3Ba) es casi insoluble en agua caliente y por lo tanto conseguía eliminar así la interferencia del SO_2 . ó del SO_3H_2 . en este procedimiento, que eran causa de posteriores errores.

Kingzett y Woodcock(8) señalan que el ácido fórmico puede producirse por oxidación lenta de algunos terpenos, lo que permitiría su presencia en productos aromatizados con aceites esenciales. Este hecho ha sido comprobado experimentalmente por Seeker(loc.cit.).

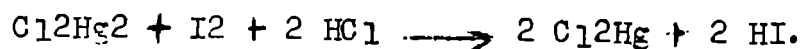
Simpson(9), determinó el contenido en ácido fórmico de caramelos de sacarosa pura variando las condiciones de temperatura y tiempo de calentamiento, encontrando que los valores apreciables en contenido de ácido fórmico eran significativos cuando la temperatura era conducida por encima de 160°C. Afirmó también que este contenido es función de la magnitud de la caramelización, la que a su vez depende de la temperatura y del tiempo de calentamiento.

El mismo Simpson(loc.cit.) ha determinado, aplicando el método de Fincke, el contenido en ácido fórmico de café crudo y tostado, llegando a la conclusión de que el primero no contiene dicho ácido, mientras que en el segundo caso encontró valores de aproximadamente 200 mg. %.

En los trabajos de Fincke la suspensión acuosa de carbonato de calcio y en los posteriores de Seeker la de carbonato de bario, conteniendo los ácidos orgánicos volátiles, era filtrada en caliente y sobre el filtrado, previamente acidificado con ácido clorhídrico, el ácido fórmico se determinaba por oxidación con bicloruro de mercurio en presencia de acetato de sodio y cloruro de sodio. La oxidación se efectúa por calentamiento por espacio de 2 hs. a baño-maría, y el precipitado de calomel era separado por filtración, lavado a fondo con agua, secado a 100°C. y pesado.

Riesser(10)(11) y posteriormente Khinof(12) usaron en sus determinaciones el método de Fincke (modificado por Seeker) hasta el proceso de oxidación con bicloruro de mercurio inclusive, pero posteriormente determinaban la cantidad de calomel precipitada volumetricamente, en el mismo líquido resultante de la oxidación. Para ello,

previa acidificación con ácido clorhídrico, agregaban solución concentrada de yoduro de potasio (IK) y luego un exceso de solución 0,1 N. de yodo, lo que permitía reconvertir cuantitativamente al calomel en bicloruro de mercurio de acuerdo con la siguiente reacción:



Posteriormente la solución es titulada con solución 0,1 N. de tiosulfato de sodio ($\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$), empleando almidón como indicador.

Riesser también explicó que el cloruro de sodio presente en la oxidación, según el método de Fincke, evita una parcial reducción del bicloruro de mercurio a mercurio metálico.

Morton y Spencer (13), fundándose en un principio ya establecido por Grottsch (14), propusieron un método para la determinación de ácido fórmico en productos alimenticios fundado en su separación por arrastre con xilol. Tal procedimiento exige también el total arrastre del agua contenida en el producto en ensayo. A primera vista resulta evidente que es preferible el arrastre con vapor de agua utilizado por Fincke, ya que en él tan solo los ácidos volátiles quedan retenidos, mientras que en el proceso de Morton y Spencer permanecen juntamente con el ácido fórmico la totalidad de los productos orgánicos volátiles. Se comprende el error de este procedimiento, si se tiene en cuenta que la valoración final se hace por el procedimiento de oxidación con bicloruro de mercurio.

Zerban (15) ha experimentado este método, señalando que no puede ser empleado en productos ricos en hidratos de carbono ya que la temperatura de destilación (aproximadamente de 130°C.) produce adecuados procesos de caramelización y con ello ácido fórmico.

El método oficial A.O.A.C. (16), cuyos detalles pueden verse en la parte experimental, es el original de Fincke que ha sido modificado en pequeños detalles. El mismo ha sido sometido a ensayos de contralor por Zerban (loc. cit.), habiendo hecho ensayos sobre hi-

dratos de carbono puros e impuros que le dieron los siguientes valores en ácido fórmico:

Dextrosa y levulosa pura, no contienen ácido fórmico.

Azúcar de caña refinada, sólo contiene trazas.

Azúcar bruto (6 muestras): 4 a 27 mg %.

Azúcar de melaza (1 muestra): 4 mg %.

Azúcar bruto de remolacha (1 muestra): 40 mg %.

Jarabe de azúcar de caña (7 muestras): 7 a 15 mg %.

Final de azúcar de melaza (2 muestras): 139 a 154 mg %.

Azúcar de refinería suave (15 muestras): 14 a 155 mg %.

Jarabe de azúcar de refinería filtrado (2 muestras): 678 a 791 mg %.

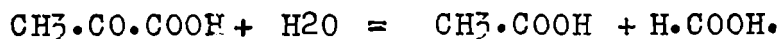
Melazas finales de azúcar de refinería (2 muestras): 416 a 586 mg %.

El ácido fórmico tiene aplicación como un conservador de productos preparados a base de frutas (mermeladas, jaleas, etc.).

Smith(17) afirma que en algunos casos su efecto conservativo es superior al del ácido salicílico.

Pequeñas cantidades de ácido fórmico pueden tener un origen natural, en algunos alimentos, a través de procesos biológicos (fermentaciones).

Stephenson(18) señala que muchas bacterias, principalmente las Bacteriaceas, actúan sobre el ácido pirúvico hidrolíticamente de acuerdo a la siguiente ecuación:



Algunos organismos que poseen hidrogenilasa descomponen el ácido fórmico en hidrógeno y anhídrido carbónico, mientras que en otros casos el ácido fórmico se acumula.

En 1892 Frankland mostró la producción de hidrógeno y anhídrido carbónico, en proporciones equimoleculares, por fermentación de manitol, dulcitol, glucosa y arabinosa, deduciendo que ello sólo era posible por descomposición del ácido fórmico previamente produ-

cido en la fermentación. Este comportamiento ha servido para el diagnóstico del grupo de las Bacteriaceas.

Producción de ácido fórmico también se ha observado por fermentación de la glicerina y de la dihidroxiacetona por acción de las Bacteriaceas.

Los ácidos fórmico y láctico también pueden ser producidos por la acción del Bact. *Xylinum* sobre las hexosas.

DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL.

ESTUDIO CRITICO DEL METODO DE VALORACION A.O.A.C.

Este trabajo fué planeado con el objeto de establecer en productos alimenticios normales, las probables cantidades de ácido fórmico que pudieran originarse durante el proceso de destilación por el método A.O.A.C. (azúcares) o naturalmente presente en ellos.

Como se verá mas adelante tal propósito sólo se ha cumplido en parte, ya que el método a emplearse resultó objetable en algunos de sus aspectos. A continuación se expone, según el orden de experimentación seguido, una serie de observaciones que dan idea del valor del método A.O.A.C.

1. - ENSAYOS DE REDUCCION A PARTIR DE CANTIDADES CONOCIDAS DE ACIDO FORMICO.

Cómo primer paso en el control del método, se consideró de interés establecer si la fase final del mismo, consistente en la determinación gravimétrica del ácido fórmico por oxidación mediante Cl_2Hg . (bicloruro de mercurio) en medio clorhídrico, es cuantitativa.

Partiendo de una solución de formiato de bario $(\text{H.COO})_2\text{Ba}$, que contenía 1,069 mg. de ácido fórmico por ml., y habiendo previamente comprobado esta concentración por determinación de Ba. como sulfato, se hicieron dos ensayos de reducción que conducidos de acuerdo a la técnica A.O.A.C. (ver parte experimental), dieron muy buenos valores de recuperación como puede apreciarse en el siguiente cuadro:

Ensayo	Acido fórmico en ensayo (mg)	Calomel pesado (mg)	Acido fórmico recuperado (mg)	Error %
1.	81,38.	838,2.	81,72.	+ 0,41.
2.	81,38.	836,4.	81,55.	+ 0,20.

El ensayo 2 fué sometido a un proceso de concentración por ebullición, para colocarnos en las condiciones de trabajo que se siguen durante las determinaciones por el método A.O.A.C., con el objeto de probar si el mismo tenía influencia en los valores de recuperación.

2.- ESTUDIO SOBRE EL PROCESO DE DESTILACION POR ARRASTRE CON VAPOR.

De acuerdo al fundamento del método, la separación del ácido fórmico se funda en un arrastre con vapor, captándose en un receptor con un fijador alcalino (suspensión acuosa de CO_3Ba). De acuerdo a esto, todos los ácidos arrastrables por vapor serán fijados conjuntamente con el fórmico, lo cual no es inconveniente ya que la determinación final se funda en el poder reductor que sólo tiene el ácido fórmico.

Una crítica de orden teórico puede hacerse si se admite que aldehidos volátiles pueden resinificarse debido a la naturaleza alcalina del fijador, perdiendo así en este su condición de volátiles, con lo cual cabría la posibilidad de obtener por posterior oxidación con bicloruro de mercurio, cantidades de calomel engendradas por sustancias distintas al ácido fórmico,

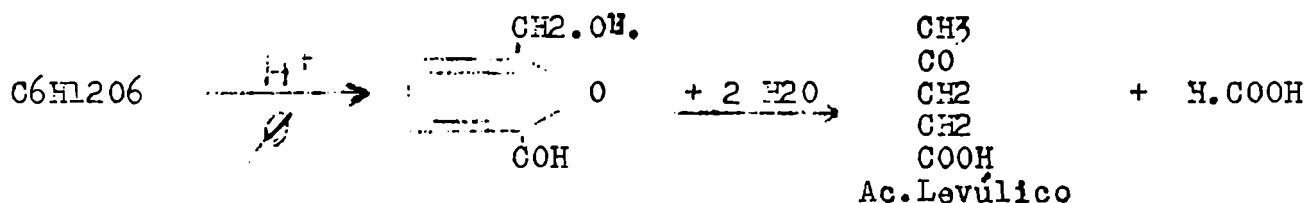
Otra posibilidad de error deriva de probables arrastres mecánicos de materia orgánica; y sobre este punto se hicieron ensayos experimentales.

En el método A.O.A.C. se emplea una simple trampa del tipo Kjeldahl para evitar estos inconvenientes. Para juzgar sobre la seguridad que este sistema ofrece, se hicieron una serie de determinaciones siguiendo estrictamente la técnica A.O.A.C.:

El cuadro que sigue muestra los resultados obtenidos,

Ensayo	Sustancia	Sustancia en ensayo (gr)	Calomel pesado (mg)	Acido fórmico hallado (mg).	Mg. de ácido fórmico % gr, sustancia	Azucar transformada %.
1.	Glucosa.	5,01.	121,0.	11,8.	235.	0,92
2.	Glucosa..	5,01.	105,2.	10,3.	206.	0,81.
3.	Glucosa.	5,00.	93,5.	9,1.	182.	0,71.
4.	Levulosa.	5,00.	118,8.	11,6.	232.	0,91.
5.	Levulosa.	5,00.	157,6.	15,4.	308.	1,25.
6.	Galactosa.	5,00.	116,4.	11,3.	226.	0,88.
7.	Maltosa.	5,00.	94,6.	9,2.	184.	0,72.
8.	Sacarosa.	5,02.	66,8.	6,5.	129.	0,48
9.	Arabinosa.	4,00.	114,6.	---	---	----

Puede apreciarse que las cantidades de calomel obtenidas son excesivas, ya que resulta difícil admitir que durante la destilación pueda producirse ácido fórmico en cantidad tal, que suponga admitir la descomposición de alrededor del 1% del hidrato de carbono, de acuerdo al siguiente proceso ya conocido:



Los valores de la última columna del cuadro anterior, han sido calculados sobre la base de que cada molécula de hexosa produce una de ácido fórmico.

Como se verá en la parte experimental, no fué posible caracterizar en ninguno de los ensayos precedentes la presencia de ácido levúlico, lo cual establece en principio que el proceso de descomposición citado no tiene lugar y que muy probablemente la producción de calomel observada sea ocasionada por hidrato de carbono arrastrado mecánicamente.

Una comprobación de esta suposición se tuvo haciendo una determinación sobre una pentosa (arabinosa; ver cuadro anterior), ya que en este caso la producción de ácido fórmico es imposible. La cantidad de calomel obtenida en este caso, fué en efecto del mismo orden que con las hexosas y disacáridos.

Este último ensayo y el hecho de que el filtrado proveniente del recipiente de fijación (que contiene la suspensión acuosa de CO_3Ba) tuviera una ligera coloración amarilla debida a procesos de caramelización dado el medio ~~alcalino~~ alcalino (los álcalis favorecen catalíticamente la caramelización), aclaró definitivamente el arrastre mecánico de hidratos de carbono (mono y disacáridos), que en las condiciones experimentales del método A.O.A.C es excesivo.

//.

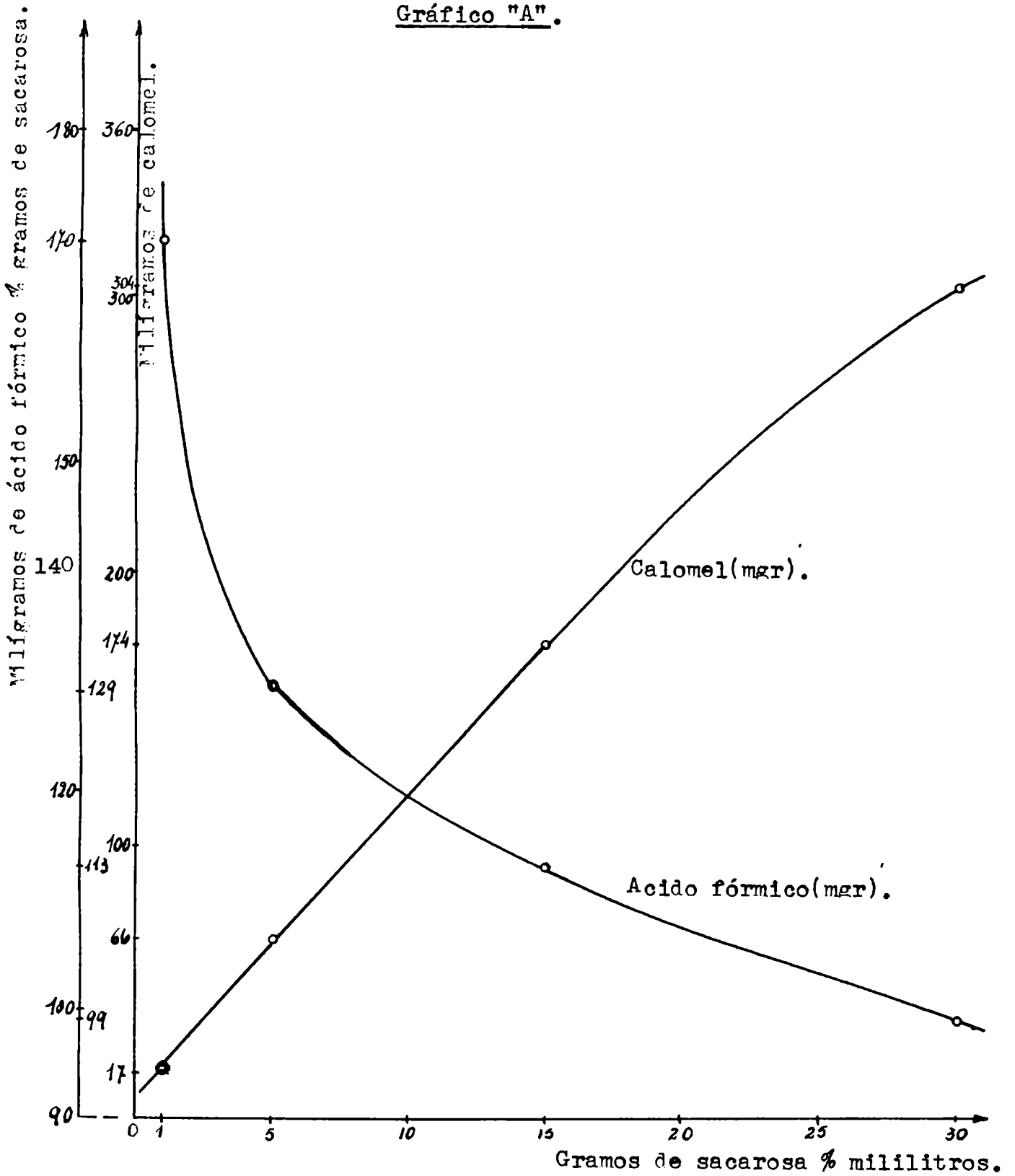
El ácido fórmico suele emplearse como agente conservador en mermeladas, jarabes, etc., productos estos muy ricos en sacarosa. Por este motivo se hicieron determinaciones siguiendo la técnica A.O.A.C. sobre líquidos acuosos conteniendo de 1 a 30 gr. de sacarosa por 100 ml. Los resultados obtenidos pueden verse en el siguiente cuadro:

Ensayo.	Gr.de saca-rosa % ml.	Calomel pe-sado (mg).	Mg.do ca-lomel % gr. sacarosa.	Acido fórmico hallado (mg).	Mg.de ácido fórmico % gr. sacarosa.
1.	1,00.	17,4	1740.	1,7.	170.
2.	5,02.	66,8.	1336.	6,5.	129.
3.	15,00.	174,2.	1160.	17,0.	113.
4.	30,00.	304,6.	1014.	29,7.	99.

Los valores de calomel obtenidos y mg. de ácido fórmico % gr.de saca rosa han sido representados gráficamente en función de las cantidades de saca rosa presentes en los respectivos ensayos (ver gráfico A.) pudiéndose apre- ciar que las cantidades de calomel obtenidas crecen con la concentración de la solución de sacarosa, aunque los resultados referidos como ácido fórmico por 100 gr. de sacarosa prueban que el arrastre mecánico es mayor cuanto me- nor es la concentración de la solución en ensayo.

Los hechos así comprobados muestran la importancia de este factor de error en el caso de aplicarse el método a la determinación de ácido fórmico en soluciones de sacarosa de elevada concentración, ya que se ha probado que soluciones de este hidrato de carbono al 30% producen valores de ácido fórmico de aproximadamente de 30 mg. cuando se trabaja sobre 100 ml. de la misma y en las condiciones de la técnica descripta por A.O.A.C.

Gráfico "A".



5.- MODIFICACION DEL APARATO DE DESTILACION A.O.A.C.

Eliminación del arrastre mecánico de la materia orgánica.

Vistas las comprobaciones referidas anteriormente, se consideró que era necesario modificar el aparato de destilación aumentando la eficacia del sistema "trampa". El dispositivo adoptado corresponde a una doble trampa del dispositivo Kjeldahl como puede verse en el esquema (ver parte experimental).

Para ilustrar sobre la eficacia de este sistema incluimos el siguiente cuadro que comprende ensayos de determinación sobre aproximadamente 5 gr. de hidrato de carbono (hexosas y disacáridos) en 100 ml. de agua y en las condiciones descriptas por A.O.A.C.

Ensayo	Sustancia	Sustancia en ensayo (gr).	Calomel pesado (mg).	Acido fórmico hallado (mg).	Mg. de ácido fórmico % gr. sustancia	Azucar transformada %.
1.	Glucosa	5,00.	5,5.	0,54.	10,80	0,012.
2.	Levulosa.	5,01.	5,0.	0,48.	9,59.	0,037.
3.	Galactosa.	5,04.	5,2.	0,50.	9,92.	0,038.
4.	Maltosa.	5,00.	8,2	0,79.	15,80.	0,062.
5.	Lactosa.	5,01.	4,4.	0,43.	8,59.	0,032
6.	Sacarosa.	5,00.	4,0.	0,39.	7,80.	0,029.
7.	Arabinosa.	2,00.	3,2.	----	----	----
8.	Azuc. rubio	5,02.	17,2.	1,67.	33,25.	0,125.

Si se comparan los valores de calomel(mg) obtenidos en estos ensayos con los verificados empleando el aparato de destilación A.O.A.C., se comprueba que se ha logrado reducir en aproximadamente 20 veces los valores entonces obtenidos. El nuevo dispositivo de retención no elimina totalmente el arrastre, pero lo reduce a términos despreciables; tal es así que en la filtración de la suspensión fijadora no se observa ninguna coloración.-

Esto se vió confirmado en un ensayo de destilación con arabinosa, en

el cual se observó una producción de calomel semejante a la de los demás hidratos de carbono.

Figura también en el cuadro un ensayo hecho con sacarosa bruta (azúcar rubio) que conducido en la misma forma que los demás produjo 3 veces más calomel. A este respecto cabe señalar que en este caso se admite una probable descomposición con producción de ácido fórmico, ya que estos productos contienen materias minerales que como ha sido señalado por Cattaneo (19) aceleran el proceso de caramelización.

También se hicieron dos ensayos sobre 100 ml de solución acuosa de sacarosa conteniendo 5 y 30 gr. de este disacárido respectivamente. Los resultados obtenidos figuran a continuación:

Ensayo.	Gr. de sacarosa % ml.	Calomel pesado (mg).	Mg. de calomel % gr. sacarosa.	Acido fórmico hallado (mg).	Mg. de ácido fórmico % gr. sacarosa.
1.	5,00.	4,0.	80,0.	0,39.	7,80.
2.	30,01.	6,2.	20,6.	0,60.	2,00.

Los resultados observados muestran que en este caso la cantidad de calomel obtenida, está muy poco influenciada por la concentración de sacarosa en ensayo, lo cual no ocurría cuando empleaba una sola trampa. -

4.- ENSAYOS DE RECUPERACION DE CANTIDADES CONOCIDAS DE ACIDO FORMICO EN AUSENCIA DE MATERIA ORGANICA.

-- Ha sido señalado que el principal factor de error en la determinación de ácido fórmico por este procedimiento radica en la destilación, como indica Woodman(20) en su obra.

Seeker(loc.cit), ha señalado que colectando 1 lt. de destilado, lo cual requiere un tiempo de aproximadamente 2 horas, sólo se recupera el 90 a 95% del ácido fórmico.. Esta afirmación se deduce en vista de que el posterior proceso de oxidación con bicloruro de mercurio (precipitación) es cuantitativo, como nosotros ya hemos confirmado.

Sin embargo no se encuentra en la literatura una explicación del porque de estos bajos rendimientos en el sentido de establecer si son debidos a una insuficiente fijación o a un tiempo corto de destilación. Por este motivo decidimos hacer ensayos de recuperación como se detalla a continuación.

a).- Ensayos de recuperación de cantidades conocidas de ácido fórmico empleando el aparato A.O.A.C.

Las cantidades de ácido fórmico introducidas en los ensayos de recuperación lo fueron como formiato de bario/ $(\text{HCOO})_2\text{Ba}/$., medidas de una solución del mismo equivalente a 4,069 mg. de ácido fórmico por ml., concentración esta que fué confirmada por determinación de Ba. como sulfato.

Empleando el dispositivo de arrestre de A.O.A.C., y recogiendo en todos los casos 1 lt. de destilado, se hicieron ensayos de recuperación teniendo en cuenta la velocidad de arrastre, determinada por el tiempo necesario para recoger 1 lt. de destilado. Con este fin se empleó como generador de vapor un balón de 2 lt. en los casos de destilación lenta y una caldera pequeña en los de destilación rápida.

Los resultados obtenidos figuran a continuación:

Ensayo	Acido fórmico en ensayo(mg)	Calomel pesado(mg)	Acido fórmico hallado (mg).	Error %.	Tiempo de arrastre.
1.	16,28.	132,2.	12,89.	- 20,2.	4 hs.
2.	16,28.	137,0.	13,36.	- 17,9.	4 hs.
3.	16,28.	136,8.	13,34.	- 18,0.	3 hs.
4.	8,14.	66,9.	6,52.	- 19,9.	2 hs.
5.	8,14.	66,3.	6,46.	- 20,6.	2 hs.

Se observa que en ningún caso se alcanzó los rendimientos de recuperación citados anteriormente por otros analistas y que los errores son prácticamente independientes de la velocidad de arrastre, lo cual permite acertar el tiempo de los ensayos aumentando la velocidad de arrastre.

b).- Ensayos de recuperación de cantidades conocidas de ácido fórmico empleando el sistema de doble trampa.

Se pensó que el hecho de aumentar el sistema de trampa retardaría el proceso de arrastre del ácido fórmico, como consecuencia del aumento del reflujo, y por esa causa se hicieron los ensayos de recuperación que figuran a continuación. En dos de ellos se empleó una caldera pequeña como generador de vapor y en el otro se duplicó el tiempo de arrastre, empleando como generador de vapor un balon de 2 lt.; pero en todos los casos se recogió 1 lt. de destilado.

Ensayo	Acido fórmico en ensayo(mg)	Calomel pesado(mg)	Acido fórmico hallado (mg).	Error %.	Tiempo de arrastre.
1.	81,38.	658,6.	64,21.	- 21,1.	3 hs.
2.	81,38.	638,6.	62,26.	- 23,5.	1 1/2 hs.
3.	40,69.	331,7.	32,34.	- 20,5.	1 1/2 hs.

Como se vé los errores son del mismo orden que los obtenidos

empleando el dispositivo A.O.A.C., con lo cual puede afirmarse que la doble trampa no retarda la destilación.

c).- Ensayos de recuperación de cantidades conocidas de ácido fórmico empleando ácidos de distinta fuerza en la liberación.

En el método descrito en A.O.A.C. se efectúa el arrastre en presencia de 1 gr. de ácido tartárico. Todos los ensayos de recuperación descritos anteriormente han sido hechos partiendo de solución de formiato de bario y empleando ácido tartárico en la liberación.

Teniendo en cuenta los bajos valores de recuperación obtenidos en estas condiciones, se hizo un ensayo de recuperación partiendo de una cantidad conocida de formiato de bario, pero empleando ácido sulfúrico (SO_4H_2) en la liberación. El resultado obtenido figura en el siguiente cuadro, observándose que no se logra ninguna ventaja frente al empleo de ácido tartárico.

Ensayo	Acido fórmico en ensayo (mg)	Calomel pesado (mg).	Acido fórmico hallado (mg).	Error %.	Acido liberador.	Alcali fijador	Tiempo de arrastre.
1.	81,38.	643,0.	62,69.	-23,0	SO_4H_2 .	CO_3Ba .	1 1/2 hs
2.	81,38.	638,6.	62,26.	-23,5	Ac. tart.	CO_3Ba .	1 1/2 hs

d).- Ensayos de recuperación de cantidades conocidas de ácido fórmico empleando fijadores de distinta fuerza.

Se pensó también que la suspensión acuosa de CO_3Ba . no fijase totalmente al ácido fórmico durante el proceso de arrastre. Por ese motivo se hicieron dos ensayos de recuperación empleando como fijador una solución de $(\text{HO})_2\text{Ba}$., cuyo contenido en este último era tal que por carbonatación produjese la misma cantidad de CO_3Ba . estipulada en A.O.A.C.

Tampoco se consiguió mejorar los rendimientos por este procedimiento

Ensayo	Acido fórmico en ensayo(mg)	Calomel pesado (mg).	Acido fórmico hallado (mg).	Error %.	Acido liberador.	Alcali fijador	Tiempo de arrastre.
1.	81,38.	638,2.	62,22.	-23,4	Ac.tart.	(HO)2Ba.	1 1/2 hr
2.	81,38.	638,6.	62,26.	-23,5	Ac.tart.	CO3Ba.	1 1/2 hr
3.	40,69.	343,2.	33,46.	-17,8	Ac.tart.	(HO)2Ba.	1 1/2 hr
4.	40,69.	331,7.	32,34.	-20,5.	Ac.tart.	CO3Ba.	1 1/2 hr

e).- Ensayos de recuperación de cantidades conocidas de ácido fórmico empleando ácidos y fijadores de distinta fuerza.

En vista de los bajos resultados de rendimiento obtenidos durante los distintos ensayos anteriores, se decidió hacer un ensayo de recuperación empleando ácido sulfúrico en la liberación y como fijador una solución de hidróxido de bario que cumpliera las condiciones señaladas en el ensayo anterior. Los resultados obtenidos figuran en el cuadro siguiente, observándose que no se obtiene una ventaja apreciable con el uso de reactivos tan enérgicos en sustitución de los empleados por A.O.A.C.

Ensayo	Acido fórmico en ensayo(mg)	Calomel pesado (mg).	Acido fórmico hallado (mg).	Error %.	Acido liberador	Alcali fijador	Tiempo de arrastre
1.	81,38.	672,6.	65,58.	-19,4.	SO4H2.	(HO)2Ba	1 1/2 hr
2.	81,38.	638,6.	62,26.	-23,5.	Ac.tart	CO3Ba.	1 1/2 hr

f).- Influencia del volumen de destilado sobre los valores de recuperación

Habiendo probado, como se vé en los ensayos anteriores, los ba.

jos valores de recuperación, con error por defecto prácticamente constante (20%) en ensayos en los que siempre se colectó 1 lt. de destilado, y habiendo tenido en cuenta la fuerza del ácido de liberación y del álcali de fijación, se pensó que el factor de error residía en el volumen de destilado.

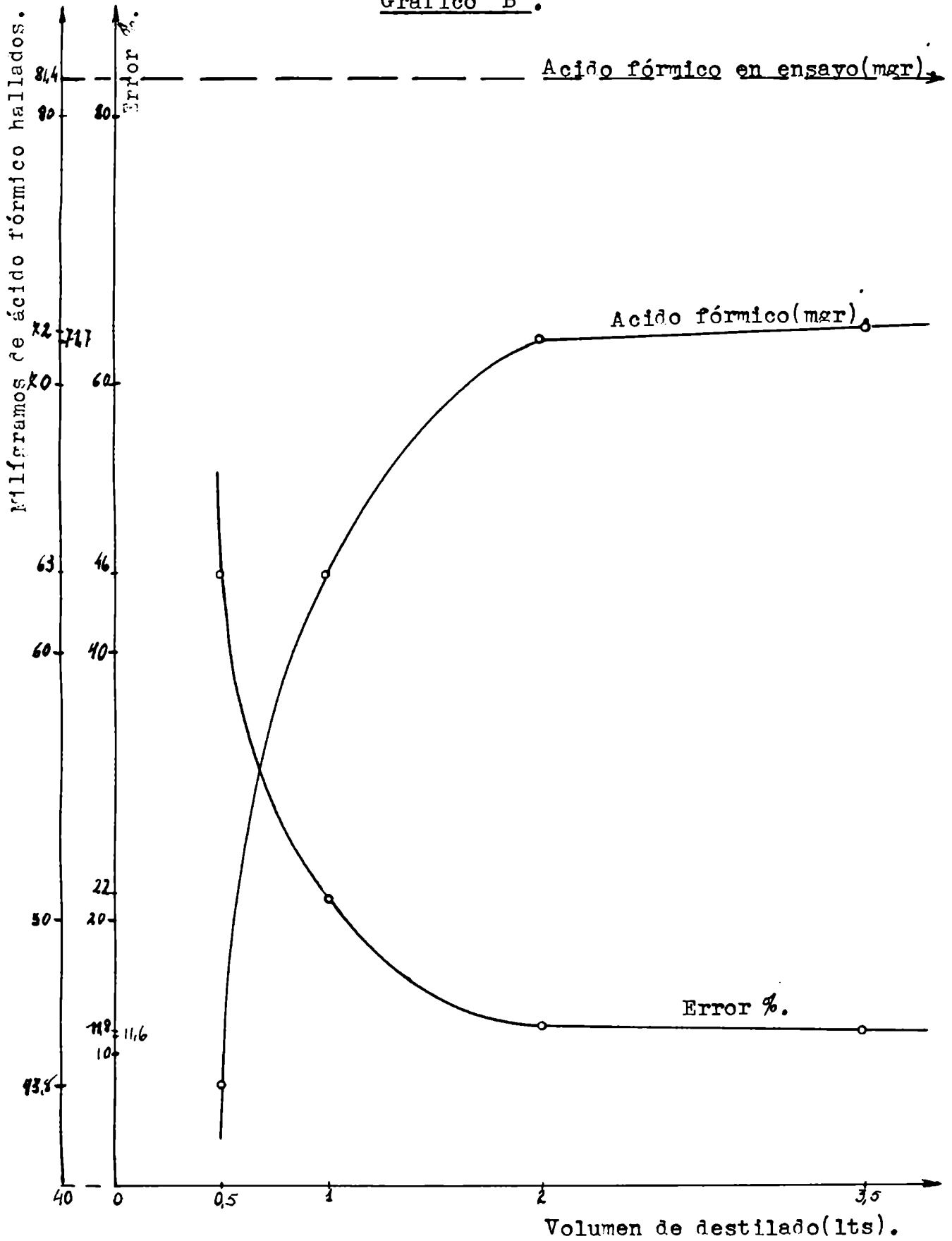
Se hicieron ensayos de recuperación partiendo en todos ellos de la misma cantidad de formiato de bario, empleando ácido tartárico en la liberación de ácido fórmico y suspensión acuosa de carbonato de bario en la fijación, pero colectando 0,5; 1; 2 y 3,5 lt. de destilado respectivamente.

Ensayo	Acido fórmico en ensayo(mg)	Calomel pesado(mg)	Acido fórmico hallado (mg).	Error %.	Volumen de destilado(lt)
1.	81,38.	450,0.	43,87.	- 46,2.	0,5.
2.	81,38.	638,6.	62,26.	- 23,5.	1,0.
3.	81,38.	658,6.	64,21.	- 21,1.	1,0.
4.	81,38.	735,2.	71,68.	- 11,9.	2,0.
5.	81,38.	739,0.	72,05.	- 11,5.	2,0.
6.	81,38.	737,6.	71,92.	- 11,6.	3,5.

Los "errores %" han sido representados graficamente en función del volumen de destilado obtenido, observándose así que el mínimo error se logró en los ensayos de 2 lt. y que un aumento mayor de destilado sobre este volumen no proporciona ninguna ventaja. (ver gráfico B).

En consecuencia no ha sido posible mejorar el error por defecto del 10%, aclarando que el mismo se logró duplicando el volumen de destilado indicado en el método A, O, A, C.

Gráfico "B".



5.- DETERMINACION DEL CONTENIDO DE ACIDO FORMICO DE CAMELOS DE SACAROSA BRUTA. - INFLUENCIA DEL GRADO DE CAMELIZACION .-

Aceptándose las condiciones de determinación con un error por defecto el 10%, se determinó el contenido en ácido fórmico de caramelos de sacarosa bruta, obtenidos por caramelización a presión normal y a una temperatura comprendida entre 180 - 200°C. Se prepararon 5 caramelos en grados de caramelización crecientes, entendiéndose por tal la pérdida de peso sufrida por 100 gr. de sacarosa bruta durante el proceso de caramelización.

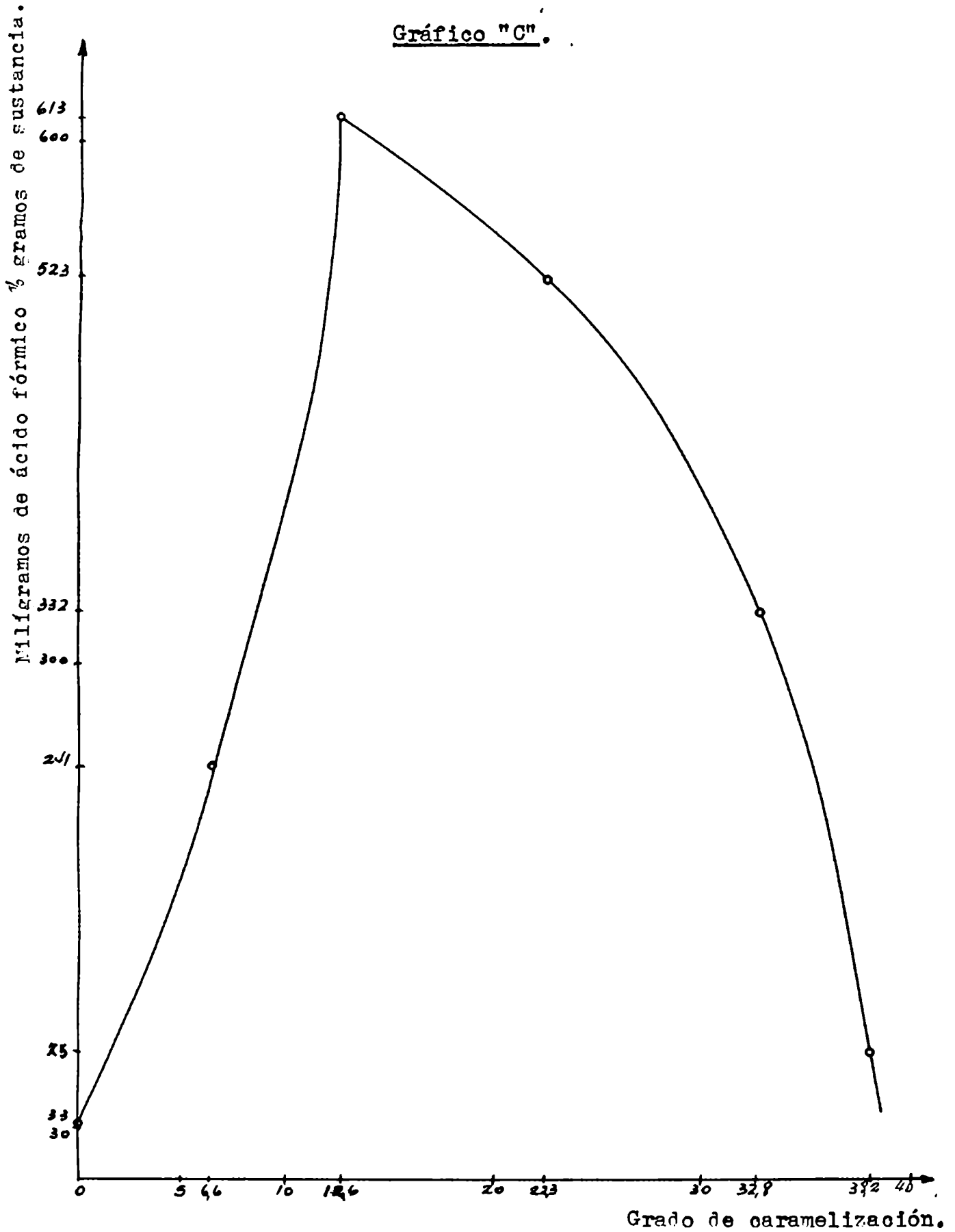
Las determinaciones se efectuaron sobre 5 gr. de cada producto, en 100 ml. de agua, en presencia de 1 gr. de ácido tartárico, empleando como fijador solución acuosa de carbonato de bario, colectando 2 lt. de destilado y conduciendo la operación con el dispositivo de doble trampa.

Los resultados obtenidos figuran a continuación:

Sustancia.	Grado de caramelización.	Sustancia en ensayo (gr).	Calomel pesado (mg).	Acido fórmico hallado (mg).	Mg. de ácido fórmico % gr. de sustancia.
Sac.bruta.	0,00.	5,02.	17,2.	1,67.	33,25.
Caramelo.	6,66.	5,00.	123,6.	12,05.	241,00.
Caramelo.	12,66.	5,04.	317,0.	30,91.	613,29.
Caramelo.	22,33.	5,00.	268,6.	26,19.	523,80.
Caramelo.	32,86.	5,07.	172,0.	16,77.	332,69.
Caramelo.	38,13.	4,99.	38,8.	3,78.	75,72.

Como se vé el contenido en ácido fórmico crece rápidamente con el grado de caramelización, alcanza un máximo y luego decrece (ver gráfico C).

Gráfico "C"



Teniendo en cuenta el alto contenido en ácido fórmico en caramelos de azúcar bruto y siendo este el producto más usado en la industria del café torrado debido a su gran velocidad de caramelización, se efectuaron las determinaciones del contenido en ácido fórmico: a). de un café tostado puro (de Colombia) y b). de un café torrado (de Brasil) elaborado con azúcar bruto, siendo ambos de tipo común en el comercio.

Los valores hallados fueron muy semejantes, a pesar de lo cual se sugiere la conveniencia de insistir sobre estos ensayos para ver si es posible sacar provecho en el sentido de diferenciar esos dos productos.

Los valores obtenidos figuran en el siguiente cuadro:

Ensayo	Tipo de café	Café en ensayo (gr.)	Calomel pesado (mg)	Acido fórmico hallado (mg).	Mg. de ácido fórmico % gr. de sustancia.
1.	Colombia.	5,01.	85,6.	8,35.	166,71.
2.	Brasil.	5,01.	96,4.	9,40.	187,66.

Simpson (loc. cit.) ha determinado, aplicando el método de Fincke, el contenido en ácido fórmico de café crudo y tostado llegando a la conclusión de que el primero no contiene, mientras que en el segundo caso encontró valores de aproximadamente 200 mg %.

PARTE EXPERIMENTAL.

En este capítulo se describen y detallan los métodos y aparatos utilizados durante los distintos ensayos realizados.

1.- METODO OFICIAL DE DETERMINACION DE ACIDO FORMICO DEL A.O.A.C.

Reactivos.

- a). Acetato de sodio: Disolver 50 gr. de acetato de sodio(CH_3COONa) seco en cantidad suficiente de agua hasta 100 ml. y filtrar.
- b). Cloruro mercúrico(sublimado corrosivo o bicloruro): Disolver 100 gr. de cloruro mercúrico y 150 gr. de cloruro de sodio en suficiente cantidad de agua, hasta un litro y filtrar.

Aparato.

El aparato requerido consiste de un generador(S) de vapor(un erlenmeyer de 1 lt. o más), un balón(A) de 300 ml. en el cual se coloca la muestra, un balón(B) de 500 ml. conteniendo una suspensión de carbonato de bario, una trampa para el vapor de Kjeldahl(T), un condensador y un matraz o frasco(C) de 1 lt. de capacidad.

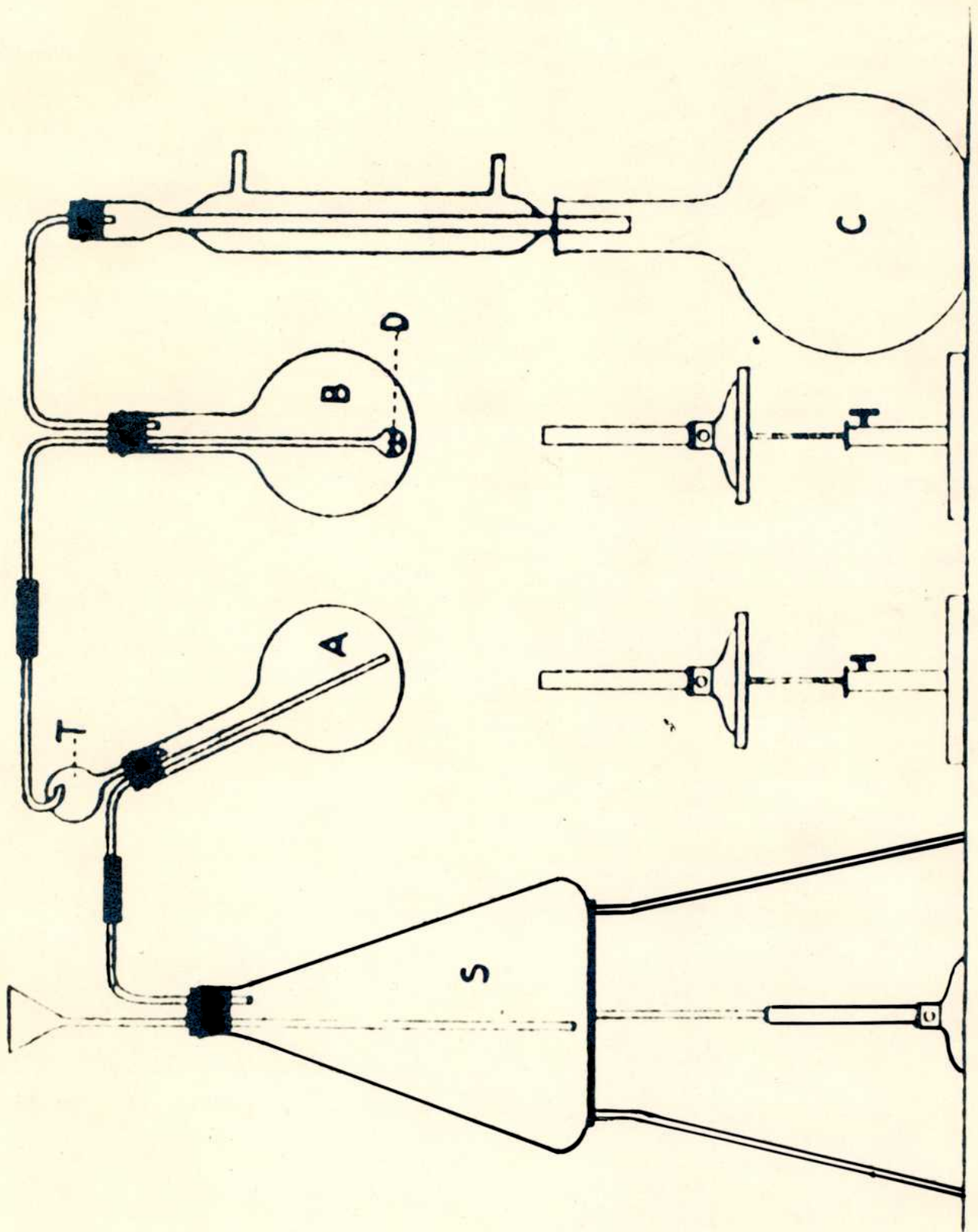
La punta o extremidad del tubo D., que llega hasta B., consiste de un bulbo que contiene una cierta cantidad de pequeños agujeros para romper el vapor en pequeña burbujas.

Determinación.

Usar 50 ml. de líquido, tales como jugos de frutas; para líquidos espesos y semi-sólidos, tales como jarabes y dulces, usar 50 gr. diluidos con 50 ml. de agua.

Poner la muestra en el balón A., agregar 1 gr. de ácido tartárico y conectar como se vé en la figura; el balón B. está cargado previamente con una suspensión de 2 gr. de carbonato de bario en 100 ml. de agua.

Si hay mucho ácido acético, usar suficiente carbonato de bario de



modo que por lo menos quede al final de la operación 1 gr.

Calentar el contenido de los balones A. y B. hasta ebullición y destilar con vapor del generador S.; el vapor pasa primero atraves de la muestra en el balón A. y después atraves de la suspensión de carbnato de bario en ebullición en B., después del cual es condensado y recibido en el balón de control volumétrico C.

Continuar la destilación hasta que se reuna 1 lt. del destilado, manteniendo el volumen de los líquidos en los balones A. y B. lo más constante posible, por calentamiento con pequeñas llamas de Bunsen y evitando la carbonización de la muestra en el balon A.

Después de recibir 1 lt. de destilado, desconectar el aparato y filtrar el contenido del balon B., mientras está caliente, lavando el carbonato de bario con un poco de agua caliente.

El filtrado y los líquidos de lavado deben medir unos 150 ml.; si no lo miden deben ser concentrados a ese volumen.

Agregar 10 ml. de solución de acetato de sodio, 2 ml. de solución de ácido clorhídrico al 10%. y 25 ml. de bicloruro de mercurio. Mezclar bien y colocar el recipiente al baño-maría o baño de vapor por espacio de 2 hs. Filtrar atraves de un crisol Gooch tarado y lavar bien el precipitado con agua fría y finalmente con un poco de alcohol.

Secar en una estufa por 30 minutos, enfriar, pesar y calcular el peso del ácido fórmico presente, multiplicando el peso del precipitado por 0,0975.

Si el peso del calomel obtenido excede 1,5 gr., repetir la determinación con más bicloruro de mercurio o menor cantidad de muestra.

Hacer un ensayo en blanco con cada nuevo lote de los reactivos empleados para la reducción, usando 150 ml. de agua, 1 ml. de cloruro de bario al 10%, 2 ml. de la solución de ácido clorhídrico, 10 ml. de la solución de acetato de sodio y 25 ml., de la solución de biclo

ruro de mercurio, y calentar la mezcla en agua caliente o al baño maría por espacio de 2 hs.

Descontar el peso del calomel obtenido en este ensayo en blanco, al obtenido en la determinación regular.

Aplicación.

Este método descripto fué aplicado en ensayos de determinación de ácido fórmico sobre distintos hidratos de carbono (ver:Pg. 8.-) sobre soluciones de sacarosa de distintas concentraciones(ver:Pg. 10.-) y en diversos ensayos de recuperación de cantidades conocidas de ácido fórmico (ver: Pg. 13.-)

2. METODO ADOPTADO EN LAS DISTINTAS DETERMINACIONES DE ACIDO FORMICO.

Reactivos.

Se usaron los mismos especificados en el método A.O.A.C.

Aparato.

Cómo primera modificación se sustituyeron los tapones de goma por esmeriles.

Los balones fueron sustituidos por dos erlenmeyers de 500 ml. cada uno.

El generador de vapor usado fué, en la mayoría de los ensayos, una caldera de tamaño chico.

Y por último, en vez de la trampa simple, se utilizó una doble trampa del tipo Kjeldahl cuya forma y medidas se pueden ver en el esquema.

Determinación.

En los respectivos erlenmeyers, siempre se colocó 100 ml. de agua con las cantidades de ácido tartárico y carbonato de bario especificadas en el método A.O.A.C.

El contenido del erlenmeyer B. (con el alcalí fijador) se filtró por un filtro de vidrio, del tipo Büchner, y se hizo el vacío con una de trompa de agua para acelerar la marcha de la filtración.

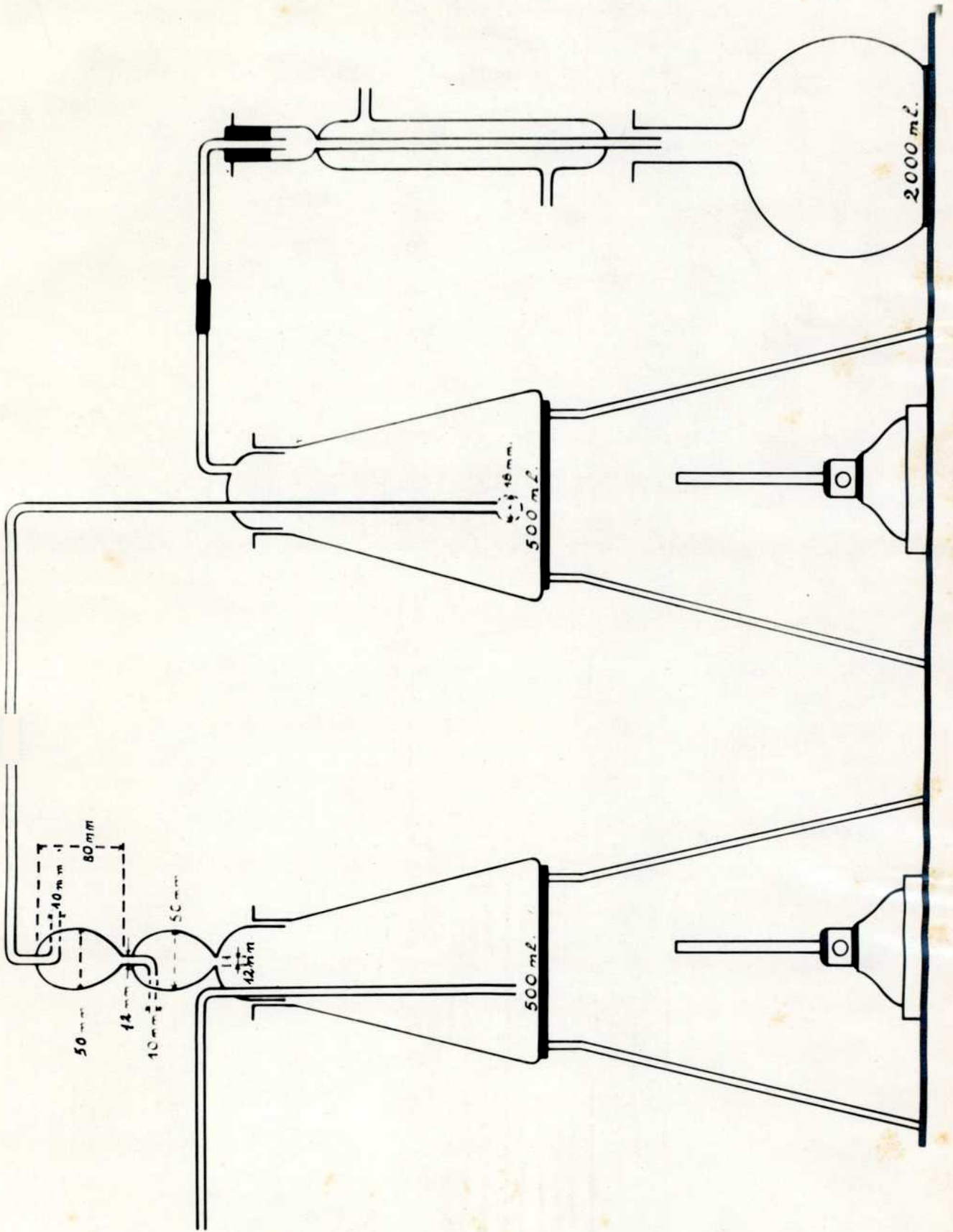
El calentamiento durante el cual se produce la reducción del bicloruro de mercurio, se efectuó en un erlenmeyer de 500 ml. con tubo de reflujo esmerilado.

El calomel, proveniente de la reducción anterior, se lo filtró por un crisol de vidrio con placa filtrante (modelo G.4) con ayuda de succión provocada por una trompa de agua.

Estas distintas modificaciones a la técnica original A.O.A.C., se hicieron con el objeto de acelerar la marcha total del método.

Aplicación.

La técnica modificada del método A.O.A.C., fué aplicada en diversos ensayos de recuperación de cantidades conocidas de ácido fórmico (ver: Pg. 14.-), en ensayos de determinación de ácido fórmico sobre distintos hidratos de carbono (ver: Pg. 11.-), caramelos de sacarosa bruta (ver: Pg. 18.-) y café torrado y tostado (ver: Pg. 19.-).



3.- INVESTIGACION DE ACIDO LEVULICO.

El ácido levúlico no es arrastrable por vapor de agua; por consiguiente su investigación se hizo, una vez terminada la destilación, sobre el contenido del erlenmeyer de arrastre.

Sobre este se hicieron tres extracciones con 50 ml. de éter etílico por vez, y los extractos etílicos, fueron a su vez extraídos con pequeñas porciones de HONa normal. Los extractos acuosos así obtenidos fueron acidificados con ácido clorhídrico y adicionados de un exceso de solución fuertemente clorhídrica de dinitrofenilhidrazina, no observándose formación de precipitado.

4.- METODO DE PREPARACION DE LOS CAMELOS.

Como materia prima se empleó el llamado azúcar bruto, azúcar morena o rubia, que constituye la sacarosa de caña o remolacha obtenida antes de la purificación final; este producto dista mucho de poseer la composición y pureza de la sacarosa pura.

Para preparar los distintos tipos de caramelo, el azúcar bruto es previamente secado a 100 - 105°C. y homogeneizado por trituración en un mortero. Los distintos caramelos fueron preparados operando sobre 15 gr. de azúcar bruto seco, en cápsula de porcelana, a la temperatura de 180-200°C. (en estufa de aire) y presión atmosférica. El tiempo de calentamiento varía entre 15 minutos y 2 horas, según el grado de deshidratación deseado.

Los caramelos se dejan enfriar en un desecador, obteniéndose por pesada la "pérdida de peso o grado de caramelización", el cual se expresa % partes de azúcar. Los caramelos se homogeneizan por trituración en un mortero y conservan en tubos bien cerrados, pues se trata de productos muy higroscópicos, tanto más cuanto menor es el "grado de caramelización".

Siguiendo esta técnica descripta, se prepararon una serie de caramelos (5 en total) cuyos "grados de caramelización" están comprendidos entre 6,66 y 38,13 y sobre los cuales se realizaron los distintos ensayos descriptos anteriormente.

CONCLUSIONES.

- 1.- Se ha hecho una revisión bibliográfica acerca de los métodos registrados en la literatura para la determinación del contenido en ácido fórmico de productos alimenticios.
También se ha extractado de la literatura los antecedentes vinculados con el contenido natural en ácido fórmico de los productos alimenticios y factores de producción del mismo.
- 2.- El método descrito por A.O.A.C. ha sido sometido a ensayos de contralor. Se pudo probar:
 - a). Que practicado en soluciones de hidratos de carbono (pentosas hexosas y disacáridos), en ensayos conteniendo 5 gr. de los mismos en 100 ml. de solución, se obtienen resultados que indican la formación de ó a 15 mg. de ácido fórmico, que expresado % de hidrato de carbono representan de 129 a 308 mg. de ácido fórmico.
 - b). La posibilidad de que ese ácido fórmico pueda existir como tal en el producto en ensayo es nula. Su formación por descomposición del hidrato de carbono en ácido fórmico y levúlico durante la destilación fué descartada por no haberse podido aislar el ácido levúlico en ningún ensayo (como dinitrofenilhidrazona).
 - c). Ya que la cantidad de ácido fórmico encontrada en el ensayo con arabinosa era del mismo orden que con las hexosas, la explicación de los altos rendimientos en ácido fórmico son pueden ser debidos a arrastre mecánico de hidratos de carbono, siendo estos los que producen la posterior reducción del bicloruro de mercurio.
 - d). Operando sobre cantidades conocidas de ácido fórmico y aplicando siempre la técnica A.O.A.C., los valores de recuperación oscilaron en alrededor del 80%.

CONFIDENTIAL

- 3.- Se propone un dispositivo de arrastre en sustitución del señalado por A.O.A.C., equipado con una doble trampa que prácticamente anula el arrastre mecánico de hidratos de carbono.
- 4.- Se han hecho ensayos tendientes a mejorar los valores de recuperación de cantidades conocidas de ácido fórmico (como formiato de bario) durante la destilación. Se pudo probar:
- a). Que el empleo del ácido tartárico, preconizado por A.O.A.C., es correcto, pues no se obtienen ventajas sustituyéndolo por ácido sulfúrico.
 - b). Que la suspensión acuosa de carbonato de bario empleada por A.O.A.C. tiene el mismo poder fijativo que soluciones de hidróxido de bario.
 - c). Que tampoco se logran ventajas en ensayos de recuperación empleando ácido sulfúrico e hidróxido de bario.
 - d). Que los rendimientos se consiguieron mejorar sólo aumentando el volumen del destilado.
El mínimo error (10%), se logró recogiendo 2 lt., en lugar de 1 lt. como establece A.O.A.C. Volúmenes mayores de destilado no disminuyen este error.
 - e). Que la velocidad de arrastre prácticamente no tiene influencia sobre los rendimientos.
 - f). Finalmente se sugiere la conveniencia de modificar el dispositivo de fijación para lograr mejores valores de recuperación.
- 5.- Operando sobre una serie de caramelos obtenidos por caramelización de sacarosa bruta a 180 - 200°C. y presión atmosférica, se pudo probar que el contenido en ácido fórmico crece con el grado de caramelización, alcanza un máximo y luego decrece.

A. Morcoso Boedo

FOFH-BA

BIBLIOGRAFIA.

- (1) FINCKE H., Z. Nahr. Genussm.: 21, 1 (1911).
- (2) FINCKE H., Z., Nahr. Genussm.: 22, 88 (1912).
- (3) FARNSTEINER., Z. Nahr. Genussm.: 15, 598 (1908).
- (4) HEIDUSCHKA y KAUFMANN., Z. Nahr. Genussm.: 21, 375 (1911)
- (5) FINCKE H., Z. Nahr. Genussm.: 23, 255 (1913).
- (6) SEEKER., Journal of A.O.A.C.: 1, 210 (1915).
- (7) SEEKER., Journal of A.O.A.C.: 1, 556 (1916).
- (8) KINGZETT y WOODCOCK., Soc. Chem. Ind.: 29, 791 (1910);
Chem. News.: 105, 26 (1912).
- (9) SIMPSON S.G., Ind. Eng. Chem.: 15, 1054 (1923).
- (10) RIESSER O., Z. Physiol. Chem.: 96, 355 (1915).
- (11) RIESSER O., J. Chem. Soc.: 110(II), 455 (1916).
- (12) KHINOI L.M., Sbornik Rabot Sanit.- Prom. Khim. Ints. Higieny Truda i Profzabolevani Leningrad. Gorzdravotdela: 81 (1940);
Khim. Referat. Zhur.: 4 (N°5), 71 (1941).
- (13) MORTON y SPENCER., J. Assoc. Official Agr. Chem.: 9, 221 (1926).
- (14) GROTTISCH V.E., J. Ind. Eng. Chem.: 12, 1183 (1920).
- (15) ZERBAN F.W., J. Assoc. Official Agr. Chem.: 15, 355 (1932).
- (16) "Official and Tentative Methods of Analysis"
of A.O.A.C.: 442 (1935).

FCFBA

- (17) SMITH., J. Am. Chem. Soc.: 1236 (1907).
- (18) STEPHENSON., "Bacterial Metabolism" London (1943)
- (19) CATTANEO P., Anales de la Asociación Química
Argentina: 29, 33 (1941).
- (20) WOODMAN., "Food Analysis" New York (1941) pg. 434.
