

Gabinete Químico de la Policía Federal, Dirección de Investigaciones, Moreno 1550, Buenos Aires, y Facultad de Agronomía y Veterinaria, Cátedra de Química Orgánica y Biológica, Avenida San Martín 4453, Buenos Aires, Argentina

Estudios sobre Ácidos Hidroxámicos

IX. Microreconocimiento y Valoración de Ácido Fórmico y Formiatos Inorgánicos. Su Aplicación a Productos Alimenticios

Por

Omar A. Guagnini y Eugenio E. Vonesch

Con 2 Figuras

(Recibido el 20 de octubre de 1958)

Las reacciones analíticas del ácido fórmico son variadas; algunas técnicas de reconocimiento aprovechan su aberrante propiedad reductora, ausente en los demás ácidos carboxílicos, frente al permanganato de potasio y a las sales argénticas o mercúricas, determinándolo preferentemente en líquidos enriquecidos por destilación^{15,20}. En general, no son específicas y exigen cantidades relativamente grandes de muestras. De todas ellas, las que se basan en la reducción de las sales mercúricas son las más sensibles, logrando determinarse miligramos de ácido fórmico con las técnicas originales gravimétricas y titrimétricas^{4,7,10,12,14,16-18}. La aplicación colorimétrica, basada en la reducción de los ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico, permiten aumentar la sensibilidad hasta los $5 \mu\text{g}/\text{ml}^4$. Igualmente el método oficial del A. O. A. C., se funda en la reducción del cloruro mercúrico y la determinación gravimétrica del cloruro mercurioso producido². En otra variante, *Bastrup*³, esterifica el ácido fórmico, destila el éster que recoge en solución alcalina, saponifica y valora finalmente el ácido fórmico aplicando su propiedad reductora.

La transformación en formaldehído y el reconocimiento colorimétrico de éste, ha permitido disponer de otras técnicas más sensibles y también relativamente específicas, mediante el uso del ácido cromotrópico, la reacción de *Scryver* o el reactivo de *Schiff*¹. Con éstos métodos, *Droller*⁸, llega a valorar entre 0,5 y 30 partes por millón de ácido fórmico, debiendo

tener en cuenta el error que puede producir el formaldehído preexistente o el generado por otros compuestos capaces de originarlo.

La conversión de los ácidos carboxílicos en ésteres y su posterior identificación como derivados hidroxámicos, fue propuesta como prueba específica para aquellos, por *Cheronis* y *Entrikin*⁶, basándose en otros autores^{5, 9, 15, 20}. La imposibilidad de convertir los ácidos carboxílicos directamente en derivados hidroxámicos, exige su previa transformación en cloruros de acilo mediante el cloruro de tionilo⁹, y recién entonces con la hidroxilamina producir los compuestos hidroxámicos. En esta técnica debe tenerse en cuenta como causa de error, la acción del reactivo halogenado sobre los α -hidroxiácidos capaces de engendrar ácido fórmico, un aldehído o una cetona. Si bien las condiciones indicadas por *Cheronis* y *Entrikin*⁶, no buscan la especificidad para un determinado ácido carboxílico, la reacción es valiosa por su elevada sensibilidad, que es inferior a 10 μ g. La obtención relativamente sencilla del ácido formohidroxámico a partir de los ésteres fórmicos, fué estudiada por nosotros en una comunicación anterior¹³, estableciendo las condiciones necesarias de especificidad. En el presente trabajo, se describe una microtécnica fotocolorimétrica para el reconocimiento y la valoración del ácido fórmico. Ella se aplicó particularmente para su evaluación en productos alimenticios. Se caracteriza por su sencillez, rápida ejecución y por la pequeña cantidad de muestra necesaria.

Este procedimiento exige la esterificación del ácido a formiato de etilo, su destilación, recepción en solución de hidroxilamina amoniaca, para su conversión en formohidroxámico y finalmente su reconocimiento y valoración fotocolorimétrica como quelato férrico²¹. La técnica indicada permite apreciar un mínimo de 2 μ g de ácido fórmico en un volumen final de 4 ml; siendo la coloración del formohidroxamato férrico visible hasta una dilución límite de 0,5 partes por millón. La valoración fotocolorimétrica se ha adaptado a la escala macro, con un volumen final de 10 ml, lo cual permite determinar entre 50 y 500 μ g de ácido fórmico, en condiciones de especificidad, en presencia de otros ácidos carboxílicos o de formaldehído o α -cetoácidos. Los ensayos de recuperación alcanzan el 95% de las cantidades agregadas.

La resolución de casos de mezclas de ácido fórmico con ésteres y formiatos inorgánicos, se logra de una manera sencilla, aprovechando la volatilidad del ácido fórmico y de sus ésteres, y en la reacción de hidroxilaminólisis selectiva de éstos últimos¹³. La aplicación del método a productos alimenticios, no exige preparación previa de la muestra y ha demostrado su flexibilidad para adaptarlo a diversos tipos de productos, prestándose para análisis de rutina. La aplicación toxicológica a visceras, lo mismo que a otros medios complejos, será motivo de una futura comunicación.

Parte experimental

Aparatos

Aparato de microdestilación según figura N° 1.

Espectrofotómetro Universal Coleman, modelo 14, filtro PC N° 4, ajustado a 520 nm.

Reactivos

A. Solución tipo de ácido fórmico; contiene aproximadamente 1 g de ácido fórmico p. a. en 100 ml, titulado por alcalimetría.

B. Solución diluída de ácido fórmico. Se la obtiene tomando 1 ml de A y diluyéndolo a 100 ml, con agua destilada. 1 ml contiene unos 100 μg de ácido fórmico.

C. Ácido sulfúrico, aproximadamente 6 N.

D. Etanol de 95%, redestilado y exento de ésteres, según Farmacopea de los EE. UU., 15° Ed.

E. Solución reactivo de hidroxilamina. Se la prepara disolviendo aproximadamente 7 g (0,1 mol) de clorhidrato de hidroxilamina en 85 ml

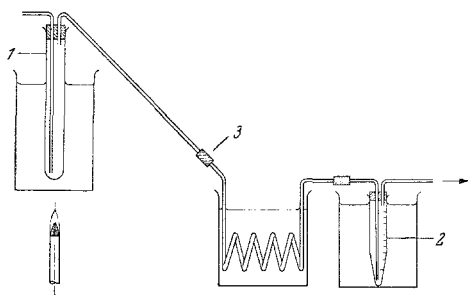


Fig. 1

de etanol de 70%; se le agregan 3 a 4 gotas de solución de fenoltaleína al 0,5% y se añade hidróxido de sodio al 40% hasta alcalinidad. Se decolora la fenoltaleína con gotas de ácido clorhídrico diluido y se completa con agua destilada hasta 100 ml. El reactivo se mantiene estable por uno a dos meses.

F. Amoníaco concentrado, p. a.

G. Solución concentrada de perclorato de hierro. Se la prepara por disolución a suave calor de 0,8 g de hierro porfirizado p. a., en 10 ml de ácido perclórico al 70%, agregando a continuación 10 ml de agua y finalmente etanol de 95% hasta completar 100 ml. El reactivo se altera con el tiempo.

H. Solución reactivo de perclorato férrico, preparada con 5 ml de G y 10 ml de ácido perclórico al 70% y completada a 100 ml con etanol de 95%.

I. Ácido perclórico al 70% purísimo.

Técnica

A. Reconocimiento cualitativo

Disponer en el tubo N° 1 un volúmen de muestra no mayor de 1 ml; agregar 0,4 ml de solución C y aproximadamente 3 a 4 ml de etanol D. Poner en el tubo colector 2, 0,3 ml de E y una gota de F. Conectar el

aparato con el sistema de aspiración, colocando el tubo 1 en el baño maría y las otras dos partes en los baños de agua con hielo. Producir una suave aspiración e iniciar el calentamiento del baño maría hasta alcanzar 70° C en unos 10 minutos. En este lapso destilan 1,5 a 2 ml del líquido contenido en 1. Desconectar la unión 3 y agregar por ella mediante pipeta, 0,5 ml de etanol D para lavar el tubo serpentín, aprovechando la aspiración a fin de reunirlo con el destilado del tubo 2. Separar el tubo 2 del sistema y agregarle 2 a 3 ml del reactivo H. Una coloración rojo violada indicará la presencia del ácido fórmico. Mediante este procedimiento, es posible reconocer 2 μg de ácido fórmico en un volumen final de 4 a 5 ml. Operando en estos límites de identificación, es necesario compararlo con un ensayo en blanco.

B. Valoración del ácido fórmico

Proceder con el mismo dispositivo y técnica empleados en el ensayo cualitativo, hasta practicar el lavado del tubo serpentín con etanol. A partir de este momento, se añaden al tubo 2, 4 ml de reactivo H, y se completa con etanol hasta un volumen final de 10 ml. Se mezcla y se realiza una lectura fotocolorimétrica dentro de un término de 5 minutos.

Calculo

Las lecturas fotocolorimétricas se transforman en la cantidad correspondiente de radical formilo mediante la utilización del gráfico N° 2. La cantidad de ácido fórmico se calcula tomando el valor del radical formilo obtenido, y multiplicándolo por el factor de transformación 1,023. El error del procedimiento es del orden del 5% por defecto. Los resultados obtenidos trabajando con soluciones puras se detallan en cuadro N° I.

Cuadro N° I. Determinación del ácido fórmico

Cantidad de ácido fórmico tomada en μg	Cantidad de ácido fórmico valorada en μg	Diferencia en μg
55	54	— 1
55	52	— 3
110	115	+ 5
110	95	— 15
110	103	— 7
132	132	0
132	127	— 5
132	128	— 4
221	215	— 6
221	213	— 8
221	217	— 4
221	209	— 12
353	354	+ 1
442	424	— 18

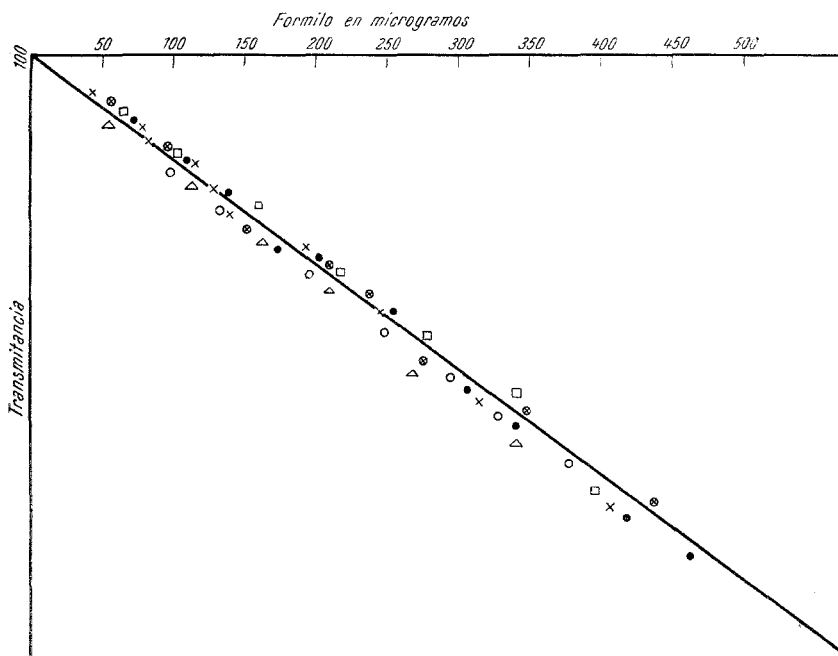


Fig. 2

Cuadro N^o II. Determinación del ácido fórmico en productos alimenticios

Producto	Cantidad de producto tomada	Cantidad de ácido fórmico contenida en μg	Cantidad de ácido fórmico por 100 g ó ml de muestra en mg
Ajies encurtidos (líquido) ..	0,2 ml	30	15
Carne de bovino (fresca) ..	870 mg	—	—
Dulce de leche	926 mg	221	45
Dulce de membrillo.....	1333 mg	50	3,7
Condimento (ketchup)....	266 mg	66	24,4
Cherut (líquido)	1 ml	—	—
Embutido (ahumado) ...	638 mg	92	14,4
Extracto de carne	490 mg	221	45
Extracto de tomate	749 mg	96	12,9
Miel	1016 mg	102	10
Pescado ahumado (lisa) ..	784 mg	69	8,8
Pickles (líquido)	0,3 ml	62	20,7
Vino (tipo oporto)	0,9 ml	100	11,1
Zumo de limón	1 ml	—	—
Zumo de mandarina	0,5 ml	47	9,4

Cuadro N° III. Ensayos de recuperación

Producto	Cantidad tomada	Cantidad de ácido fórmico contenida en μg	Cantidad de ácido fórmico agregada en μg	Cantidad total de ácido fórmico obtenida en μg	Diferencia en μg
Ajies encurtidos (líquido)	0,2 ml	• 30	110	127	— 13
Chuerut (líquido)	1,0 ml	—	221	215	— 6
Miel	1131 mg	113	110	210	— 13

En el cuadro N° II se resumen algunos resultados obtenidos aplicando el método a diversos productos alimenticios, sin que se haya requerido una concentración previa, ni la desproteínización de la muestra. Las cantidades tomadas variaron entre 200 y 1000 mg.

Consideraciones

El reconocimiento o la valoración del ácido fórmico con la técnica indicada, se funda en su esterificación con etanol, la destilación del éster producido, su inmediata hidroxilaminólisis y la producción del quelato férrico del ácido formohidroxámico originado, reconocible por su color rojo violado y apto para ser medido por fotocolorimetría.

El equilibrio de la reacción de esterificación se ha desplazado en forma prácticamente total, utilizando un gran exceso de etanol. Se ha elegido éste alcohol en lugar del metanol, para evitar la interferencia del ácido acético cuyo éster metílico puede reaccionar similarmente a los ésteres fórmicos, cuando su concentración supera en 10000 la concentración del formiato de metilo. En cambio con el acetato de etilo, no se tiene la reacción de hidroxilaminólisis.

La destilación del éster por arrastre con corriente de aire, asegura la separación total del formiato de etilo, alcanzando los 70° C en el baño maría. Con temperaturas inferiores también el arrastre es completo, pero la destilación se hace inadecuada. A 70° C hay destilación de acetato de etilo, pero afortunadamente no interfiere con la reacción. Otras sustancias volátiles a esta temperatura como los aldehídos, metanal y etanal, que producen oximas con la hidroxilamina, han demostrado no afectar la reacción con el reactivo D. Ciertos α -cetoácidos, aldehídos y cetonas polihidroxiladas reductoras, capaces de originar ácido fórmico por calentamiento en medio ácido, no lo producen en las condiciones elegidas en la técnica propuesta¹⁹.

Los ácidos pirúvico, α -cetoglutárico, éster mono-étílico del ácido oxalacético, glucosa, fructosa, xilosa y arabinosa, ensayados en cantidades de 100 a 200 mg, no generan compuestos capaces de dar reacción coloreada, al aplicarse la técnica propuesta.

Mezclas de ácido fórmico, formiatos inorgánicos y ésteres fórmicos

La reacción de producción del ácido formohidroxámico se cumple únicamente con los ésteres fórmicos y no con el ácido, ni con sus sales metálicas, los que por otra parte tampoco interfieren en su formación.

Esta circunstancia permite efectuar el reconocimiento y la valoración de cada uno de ellos por separado en los casos de mezclas. La respectiva identificación en las mezclas se basa en la volatilidad del ácido fórmico y de sus ésteres carboxílicos, y en la producción de ácido formohidroxámico únicamente por los ésteres.

Se consideraron los siguientes casos de mezclas:

a) Caso de mezcla constituida por ácido fórmico y sus sales metálicas.

De una mezcla de este tipo resulta fácilmente separable el ácido por simple destilación a presión reducida. La microtécnica utilizada fué la siguiente: se disponen 2 a 3 ml de mezcla en un tubo de ensayo cuyo tapón de goma lleva adaptado un tubo estirado en capilar que llega hasta el fondo y un tubo de desprendimiento que se conecta a una trompa de vacío. Se calienta el tubo en baño maría a 80° C y se destila con vacío hasta sequedad. Se disuelve el residuo en unos 2 a 3 ml de agua destilada y se repite la destilación hasta sequedad. En esta forma queda eliminado totalmente el ácido fórmico, así como también los ésteres.

b) Caso de mezcla constituida por formiatos metálicos y ésteres fórmicos.

Estas mezclas se tratan de la misma manera que la anterior.

c) Mezclas de ácido fórmico y ésteres fórmicos.

En estos casos se procede previamente a la exacta neutralización del ácido y se continúa como el caso *a*.

La determinación de los diferentes derivados fórmicos se realiza según el siguiente procedimiento:

1. Los ésteres fórmicos mezclados con ácido y formiatos metálicos se valoran directamente, ya que éstos no afectan la reacción con la técnica indicada²¹.

2. Los casos de formiatos metálicos con ácido fórmico o con ésteres o ambos, se los separa por destilación.

El residuo constituido por formiatos metálicos se acidifica con ácido clorhídrico diluido y se procede de acuerdo con la técnica establecida en la valoración del ácido fórmico.

3. En los casos de mezclas de ácido fórmico con ésteres fórmicos, se convierte el ácido en su sal sódica por neutralización con solución diluida de hidróxido de sodio y separando los ésteres por destilación. Sobre el residuo acidificado se determinan los formiatos.

Conclusiones

Se describe una técnica para el reconocimiento y la microvaloración de ácido fórmico y formiatos inorgánicos basada en la producción de formiato de etilo y en la transformación de éste en formohidroxamato férrico, valorable por fotocolorimetría.

La técnica establecida permite reconocerlo y valorarlo en condiciones de especificidad con una sensibilidad de $2\ \mu\text{g}$, con un límite de dilución de 5 partes por millón.

El método se ha aplicado particularmente a productos alimenticios con cantidades de muestras que oscilaron entre 200 y 1000 mg.

Resumen

Se ha estudiado el reconocimiento y la valoración del ácido fórmico en microcantidades para medios complejos, proponiéndose una técnica sencilla, de rápida ejecución y aplicable a pequeñas cantidades de muestras.

El procedimiento se basa en la esterificación del ácido fórmico a formiato de etilo, su destilación, su recepción en solución de hidroxilamina amoniaca para su conversión en ácido formohidroxámico y finalmente su reconocimiento o su valoración fotocolorimétrica como quelato férrico. Se usa un aparato de microdestilación construido con un tubo de ensayos donde se efectúa la esterificación y la destilación simultáneamente, arrastrando los ésteres formados mediante aspiración con aire; se los recoge, previo pasaje por un serpentín, en un tubo cónico donde se efectúa la hidroxilaminólisis del éster fórmico en condiciones de especificidad. En el mismo tubo se revela la presencia del formohidroxámico por adición de perclorato férrico que desarrolla el color del quelato, apto para ser valorado fotocolorimétricamente. El método permite reconocer $2\ \mu\text{g}$ de ácido fórmico en un volumen final de 4 ml. La valoración fotocolorimétrica se ha adaptado para cantidades entre 50 y $500\ \mu\text{g}$ de ácido fórmico o formiatos inorgánicos. Otros ácidos carboxílicos, α -cetoácidos, aldehidos y glúcidos reductores, no son causa de error. Los casos de mezclas de ácido fórmico, formiatos metálicos y ésteres fórmicos, se resuelven sin dificultad. La valoración del ácido fórmico en diversos productos alimenticios (encurtidos, extracto de carne, extracto de tomate, dulce de leche, dulce de membrillo, embutido, pescado ahumado, miel, vino, zumos de mandarina y limón), muestran tenores variables entre 0 y 45 miligramos por cien gramos de muestra.

Zusammenfassung

Der Nachweis und die Bestimmung von Mikromengen Ameisensäure in komplexen Substanzen wurde untersucht und eine einfache, rasch ausführbare und auf kleine Probemengen anwendbare Arbeitstechnik angegeben.

Das Verfahren beruht auf der Veresterung der Ameisensäure zu Äthylformiat, dessen Destillation in vorgelegte ammoniakalische Hydroxylaminlösung zwecks Umwandlung in Formhydroxamsäure und schließlich dem photometrischen Nachweis bzw. der Bestimmung als Eisen(III)-chelatverbindung. Hierfür dient ein Mikrodestillationsapparat, der aus einer Proberöhre besteht, von der aus die Veresterung und Destillation gleichzeitig erfolgen, wobei die entstandenen Ester im Luftstrom mitgeführt werden. Nach Durchlaufen eines Kühlrohres werden die Ameisensäureester in einem konischen Rohr aufgefangen, wo die Hydroxylaminolyse in spezifischer Weise erfolgt. Man erkennt die Anwesenheit des Formhydroxamates nach Zugabe von Fe(III)-perchlorat an der Farbe des Chelates, die zur photometrischen Bestimmung geeignet ist. Die Methode gestattet den Nachweis von 2 μg Ameisensäure in einem Endvolumen von 4 ml. Die photometrische Bestimmung wurde mit Mengen zwischen 50 und 500 μg Ameisensäure oder anorganischen Formiaten ausgeführt. Andere Carboxylsäuren, α -Ketosauren, Aldehyde und reduzierende Zucker stören nicht. Auch Mischungen von Ameisensäure, Metallformiaten und Ameisensäureestern bedingen keine Schwierigkeiten.

Die Bestimmung der Ameisensäure in verschiedenen Nahrungsmitteln (Eingemachtem, Fleischextrakt, Tomatenextrakt, Konfekt, Quittenmarmelade, Wurstwaren, Räucherfisch, Honig, Wein, Mandarinen- und Zitronensaft) zeigte verschiedene Gehalte zwischen 0 und 45 mg in je 100 g Probe.

Summary

The detection and determination of micro amounts of formic acid in complex substances was studied, and a simple, rapid procedure was worked out that can be applied to small amounts.

The procedure is based on the esterification of the formic acid to ethyl formate, whose distillation into ammoniacal hydroxylamine solution yields formhydroxamic acid which can then be detected or determined photometrically as the iron(III) chelate compound. A micro distilling apparatus is used consisting of a test tube, from which the esterification and the distillation are accomplished simultaneously, the resulting ester being carried along by the current of air. After passing through a cooling tube, the formic ester is trapped in a conical tube, where the hydroxylaminolysis is accomplished in a specific manner. The presence of the formhydroxamate is revealed, after adding Fe(III) perchlorate, by the color of the chelate, which is suitable for photometric determination. The method permits the detection of quantities of 2 μg formic acid in a final volume of 4 ml. The photometric determination was conducted with amounts between 50 and 500 μg of formic acid or inorganic formates. Other carboxylic acids, α -keto acids, aldehydes and reducing sugars do not interfere. Likewise, no difficulties are caused by mixtures of formic acid, metal formates and formic acid esters.

The determination of formic acid in various foodstuffs (preserves, meat extract, tomato extract, confectionery goods, quince jam, sausages, smoked fish, honey, wine, orange- and lemon juice) showed amounts between 0 and 45 mg formic acid in 100 g of sample.

Résumé

Recherches sur l'identification et le dosage des microquantités d'acide formique dans des substances complexes et description d'un mode opératoire simple et rapide, applicable à des prises d'essai faibles. La méthode repose

sur l'estérification de l'acide formique en formiate d'éthyle, la distillation de ce dernier et sa rétention dans une solution ammoniacale d'hydroxylamine donnant lieu à sa transformation en acide formhydroxamique et finalement sur l'identification photométrique ou encore le dosage sous forme d'un chélate de fer(III). A cette fin, on utilise un appareil de microdistillation composé d'un tube à essais dans lequel l'estérification et la distillation sont simultanément effectuées en assurant l'entraînement de l'ester formé dans un courant d'air. Après avoir traversé un réfrigérant, les esters formiques sont recueillis dans un tube conique dans lequel est effectuée l'hydroxylaminolyse de façon spécifique. La présence de formhydroxamate se manifeste, après addition de perchlorate de fer(III), par la couleur du chélate formé qui se prête à la détermination photométrique. La méthode permet l'identification de 2 μg d'acide formique dans un volume final de 4 ml. La détermination photométrique est effectuée sur des quantités d'acide formique ou de formiates minéraux comprises entre 50 et 500 μg . Les autres acides carboxyliques, les acides α -cétoniques, les aldéhydes, et les sucres réducteurs ne gênent pas. Les mélanges d'acide formique, de formiates métalliques et d'esters formiques, n'offrent aucune difficulté.

La détermination de l'acide formique dans différents aliments (confitures, extraits de viande, extraits de tomates, confiseries, marmelade de coings, saucisses, poissons fumés, miel, vin, jus de mandarine, jus de citron) a fourni des teneurs variées comprises entre 0 et 45 mg pour 100 g de prise d'essai.

Bibliografía

- ¹ L. Ahlen y O. Samuelson, *Analyt. Chemistry* **25**, 1263 (1953).
- ² A. O. A. C., *Official and Tentative Methods of Analysis*, 7. Ed. Washington: 1950.
- ³ J. Th. Bastrup, *Acta Pharmacol. Toxicol.* **3**, 303 (1947).
- ⁴ E. M. Benedict y G. A. Harrop, *J. Biol. Chem.* **54**, 443 (1922).
- ⁵ R. E. Buckles y C. J. Telen, *Analyt. Chemistry* **22**, 676 (1950).
- ⁶ N. D. Cheronis y J. B. Entrikin, *Semimicro Qualitative Organic Analysis*, 2. Ed. New York: Interscience. 1957.
- ⁷ H. D. Dakin, N. W. Janney y A. J. Wakeman, *J. Biol. Chem.* **14**, 341 (1913).
- ⁸ H. Droller, *Z. physiol. Chem.* **211**, 57 (1932).
- ⁹ F. Feigl, V. Anger y O. Frehden, *Mikrochem.* **15**, 9 (1934).
- ¹⁰ W. M. Grant, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **19**, 206 (1947).
- ¹¹ W. M. Grant, *Analyt. Chemistry* **20**, 267 (1948).
- ¹² J. Großfeld y R. Payfer, *Z. Unters. Lebensmittel* **78**, 1 (1939).
- ¹³ O. A. Guagnini y E. E. Vonesch, *Mikrochim. Acta [Wien]* **1956**, 1767; *Anal. Asoc. Quím. Arg.* **44**, 195 (1956).
- ¹⁴ Houben-Weyl, *Methoden der organischen Chemie*, 4. Aufl. Stuttgart: G. Thieme. 1958.
- ¹⁵ H. C. Jones, *Amer. Chem. J.* **17**, 539 (1895).
- ¹⁶ A. C. Krause y R. Weekers, *Arch. ophthalmol. (N. S.)* **3**, 225 (1939).
- ¹⁷ Portes y Ruysen, *C. r. acad. sci., Paris* **82**, 1504 (1876).
- ¹⁸ O. Riesser, *Z. physiol. Chem.* **96**, 355 (1915—16).
- ¹⁹ F. D. Snell y C. Snell, *Colorimetric Methods of Analysis*, 4. Ed. New York: Van Nostrand. 1954.
- ²⁰ L. Sutton, *Volumetric Analysis*. Philadelphia: 1924.
- ²¹ E. E. Vonesch y O. A. Guagnini, *Mikrochim. Acta [Wien]* **1958**, 1; *Anal. Asoc. Quím. Arg.* **45**, 84 (1957).