

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

"EL FURFUROL EN LAS BEBIDAS FERMENTADAS Y ALCOHOLICAS"

Tesis presentada para optar

al título de

Doctor en Química

por

CARLOS M. ANTONINA

La Plata, Mayo de 1940

Padrino de Tesis:

Doctor ANTONIO CERIOTTI

A MIS PADRES Y HERMANOS

Señor Decano:

Señores Profesores:

En cumplimiento de la última prueba reglamentaria para optar al honroso título de Doctor en Química, presento a vuestra honorable consideración el presente trabajo, modesto por las cualidades de su autor pero reflejo fiel de la dedicación puesta en su primer trabajo de investigación.

Junto a la satisfacción que experimento al obtener el diploma a que aspiraba, embarga a mi espíritu la emoción inevitable con que me alejo de la Universidad Nacional de La Plata, fuente de ciencia, digna de admiración y de cariño y cuyas aulas y laboratorios me traen impercederos recuerdos.

A mi estimado y laborioso Profesor Doctor Antonio Ceriotti expreso mi más infinito agradecimiento por haber tenido la deferencia de dirigirme, aconsejándome y guiándome con su preparación y experiencia en el transcurso de las distintas etapas de este trabajo.

Agradezco la gentileza con que el Doctor Carlos A. Sagastume y la Doctora Leonor Sarlo Villegas de Bollini, pusieron a mi disposición el material que me interesaba.

A los demás Señores Profesores y a mis compañeros de estudios mi reconocimiento por sus palabras de aliento, a travez de mi paso por las aulas universitarias.

REVISION DE ANTECEDENTES SOBRE LA FORMACION. ORIGEN Y EXISTENCIA
DE FURFUROL EN LAS BEBIDAS FERMENTADAS Y ALCOHOLICAS

En todas estas bebidas, el elemento predominante es, como se sabe, el alcohol etílico, al cual acompañan otros elementos normales tales como agua, materias extractivas, principios aromáticos, colorantes propios o agregados, etc. Además se señalan componentes clasificados como secundarios, accidentales ó impurezas (Congeneric substance; Substances non-alcooliques) que se originan en cantidades variables durante la fermentación, la destilación y la maduración para encontrarse en el producto final de la elaboración.

En gran parte se debe a esas impurezas el sabor y el olor característico de las bebidas alcohólicas y por lo tanto si bien son impurezas en el sentido técnico o higiénico, desde el punto de vista de sus caracteres organolépticos se trata de principios de innegable valor comercial.

Bastaría mencionar, como casos típicos, el de las bebidas añejadas tales como el cognac, el whisky y el rum en los cuales el proceso de la conservación modifica en forma tan acentuada su aroma y su sabor.

Los componentes más importantes y comunes de estas impurezas o elementos secundarios o accidentales se pueden agrupar así:

a) Acidos orgánicos: acético, propiónico, butílico, valerianico, enantílico, caproico, caprílico, fórmico, pelargónico, etc.

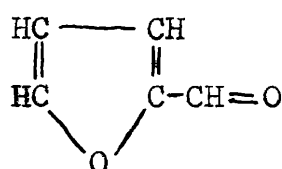
b) Esteres: acetato y valerianato de etilo, acetato y valerianato de amilo, butirato e isobutirato de etilo, enantilato de etilo, isobutirato de amilo, etc.

c) Alcoholes superiores: propílico, isopropílico, amílico, caprílico, butílico normal e isobutílico y pequeñas cantidades de otros homólogos superiores.

d) Aldehidas: acetaldehida principalmente, asociada a pequeñas cantidades de aldehida isobutílica, para-aldehida, aldehida enantílica, caproica, etc. y furfurool o aldehida del ácido piromúxico.

De entre todos estos constituyentes de las bebidas fermentadas y destiladas nos ocuparemos con preferencia y en forma especial del furfurool, tema de este trabajo.

El furfurol (furfural, furaldehído, aldehído furfúrico, furol, furfuraldehído o aldehído del ácido piromáico) es un líquido transparente, incoloro, que en contacto del aire toma color amarillo hasta llegar a ser pardo. Es soluble en el agua y en el alcohol; su densidad a 20°C está comprendida entre 1,165 y 1,160 y su punto de ebullición es de 161°C. Fue descubierto por Dobereimer en 1830(1) quién lo obtuvo sintéticamente por acción del ácido sulfúrico y del bióxido de manganeso sobre el azúcar; su fórmula, que fue determinada en 1901 por Harries, es la siguiente:



La presencia de esta aldehído en las bebidas fermentadas y destiladas puede tener varios orígenes:

- a) Formación durante el proceso de la fermentación.
- b) Formación durante la destilación del producto fermentado.
- c) Formación durante el proceso de "maduración", "añejamiento" o envejecimiento a que se someten ciertas bebidas en toneles de leños especiales (roble, encina, etc.)
- d) Presencia por agregado de caramelo (azúcar caramelizado)
- e) Incorporación ilícita de alcoholes impuros

A) Formación del furfurol durante el proceso de la fermentación.

Yamada (2) en su trabajo sobre "Furfurol en productos fermentados" sostiene no haber encontrado furfurol en el extracto etéreo del saké. shoyú (soya-sauce) y otros líquidos fermentados al final de la fermentación, pero sí haberlos hallado después de que estos líquidos han sido sometidos al proceso de destilación o de pasteurización, razón por la que el nombrado autor considera que el furfurol no es un producto que tenga origen en la acción microbiana.

André Kling (3) señala que durante la fermentación alcohólica se producen diversas reacciones secundarias, como consecuencia de la vida de las levaduras y de otros microorganismos extraños a la levadura, pero que viven a expensas de ella; pero en cuanto al furfurol, agrega que "no puede considerarse como un producto resultante de la actividad fisiológica de

los fermentos"

Después de los trabajos de M. Lindet (4) puede admitirse que la formación del furfurool, durante el proceso de la fermentación, se debe a la acción de los ácidos sobre los pentosanos contenidos en la gluma y en el endosperma de los granos en el transcurso de la sacarificación.

Mucho antes Haid (5) había comprobado que en los vinos el furfurool se forma, al aumentar la concentración del vino, a expensas de una pentosa no identificada que, según el autor, no es la l-arabinosa.

Trabajos posteriores indican que las pentosas tales como la xilosa, arabinosa, etc., producen furfurool bajo la influencia de los ácidos diluidos. ¿Como se explicaría entonces la no presencia del furfurool al final de la fermentación, observada ya por el nombrado Yamada?

Este interrogante tiene su explicación en los siguientes hechos:

Windisch había observado que por corta acción de la levadura sin haber comenzado la fermentación en soluciones conteniendo hasta 1:10,000 de furfurool, este desaparecía en una hora por oxidación y conversión, según el autor, a ácido piromálico.

Lintner (6) al profundizar los trabajos de Windisch (7) que observó que después de la fermentación en soluciones que contenían furfurool, este no se encontraba más al tiempo que se percibía un olor desagradable y penetrante, llegó a la conclusión de que el furfurool se combinaba con el hidrógeno sulfurado producido durante la fermentación, formándose una emulsión láctea de politiofurfurool, la cual precipitaba por acción del ácido sulfúrico o del ácido clorhídrico y que ese politiofurfurool era el causante del olor desagradable.

Sin embargo, ese olor desagradable y típico no es debido al politiofurfurool sino más bien a impurezas sulfuradas que lo acompañan, probablemente del tipo de los mercaptanos.

Muchas levaduras producen durante la fermentación hidrógeno sulfurado y este podría ser el origen del azufre que se combina con el furfurool, o según Abramov y Lhotsky (8) que explican la formación del hidrógeno sulfurado a partir de los sulfatos propios del agua utilizada en las fábricas o de los sulfatos que se han agregado como un factor de co-

rección o también va por el lúpulo tratado por anhídrido sulfuroso o por azufre sublimado, los cuales son los que producen cantidades apreciables de hidrógeno sulfurado durante la fermentación.

Pero esta formación de derivados sulfurados del furfurool durante la fermentación, no explica completamente su desaparición, ya que desaparece también en ausencia de hidrógeno sulfurado y por otra parte aún en presencia de mucho hidrógeno sulfurado no se combina todo el furfurool con él, pues parece combinarse rápidamente con alguna otra sustancia o que experimente alguna transformación que le impida reaccionar con el hidrógeno sulfurado.

Litner y Liebig (9) dieron la explicación al respecto al observar que el furfurool no se oxidaba pues era imposible identificar el ácido piromítico, pero si se reducía, ya que después de una serie de experiencias pudieron demostrar que se convertía en alcohol furfurílico durante la fermentación.

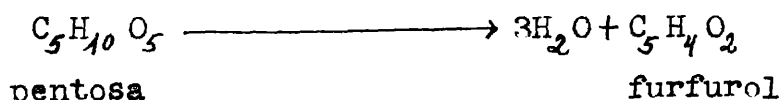
Trabajos posteriores de estos mismos autores (10) demostraron que también se forma furiltrimetilenglicol.

De paso, diremos que el furfurool es un débil veneno de las levaduras.

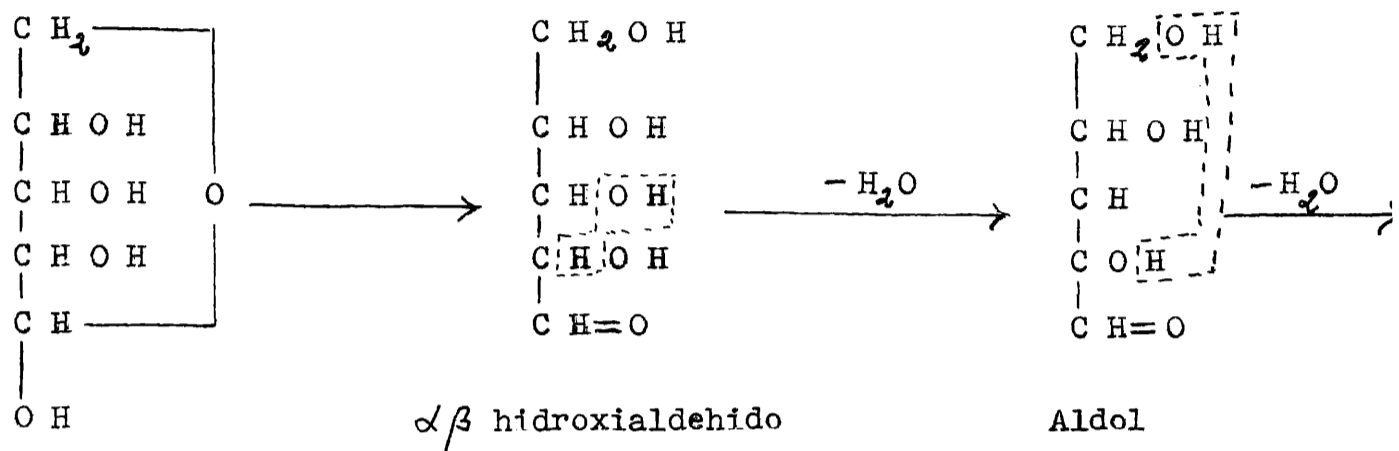
B) Formación durante la destilación del producto.

En el ya citado trabajo de Masakazu Yamada se hace notar que si bien no encuentra furfurool después de la fermentación, éste aparece al sufrir el líquido el proceso de pasteurización o de destilación.

Este furfurool se forma a expensas de la acción del calor sobre los carbohidratos, entre los cuales las pentosas (xilosa, arabinosa, etc.) son las principales sustancias madres ya que dan directamente furfurool por la pérdida de tres moléculas de agua, bajo la acción del calor y en medio ácido.

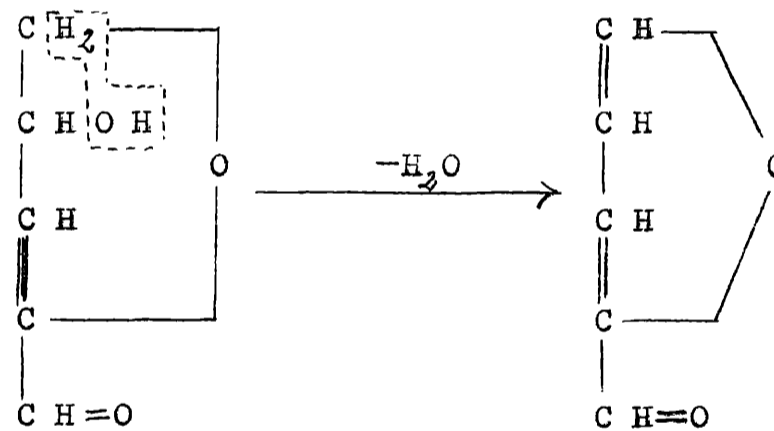


Según Hurd e Isenhour (II) se considere o nó que una aldopentosa posea la fórmula cíclica hemiacetal o la fórmula de aldehida de cadena abierta, es lógico que esta última es una faz intermediaria entre la primera y el furfurool. De acuerdo con la opinión de estos autores, los cambios moleculares experimentados por una aldopentosa para pasar al furfurool serían:



Aldopentosa

(fórmula cíclica)



Furfurool

Si aplicamos este mismo esquema partiendo de una metilpentosa (rhamnosa, fucosa, etc.) nos dará como producto final metilfurfurool y si partimos de una exosa (glucosa, fructosa, sorbosa, etc.) nos conducirá al oxi-metilfurfurool.

Dado que en las materias primas vegetales comúnmente usadas en la fabricación de las distintas bebidas fermentadas y destiladas se encuentran:

a) almidón, que por hidrólisis dará maltosa, la cual a su vez por un nuevo proceso hidrolítico producirá glucosa que por la acción del calor se

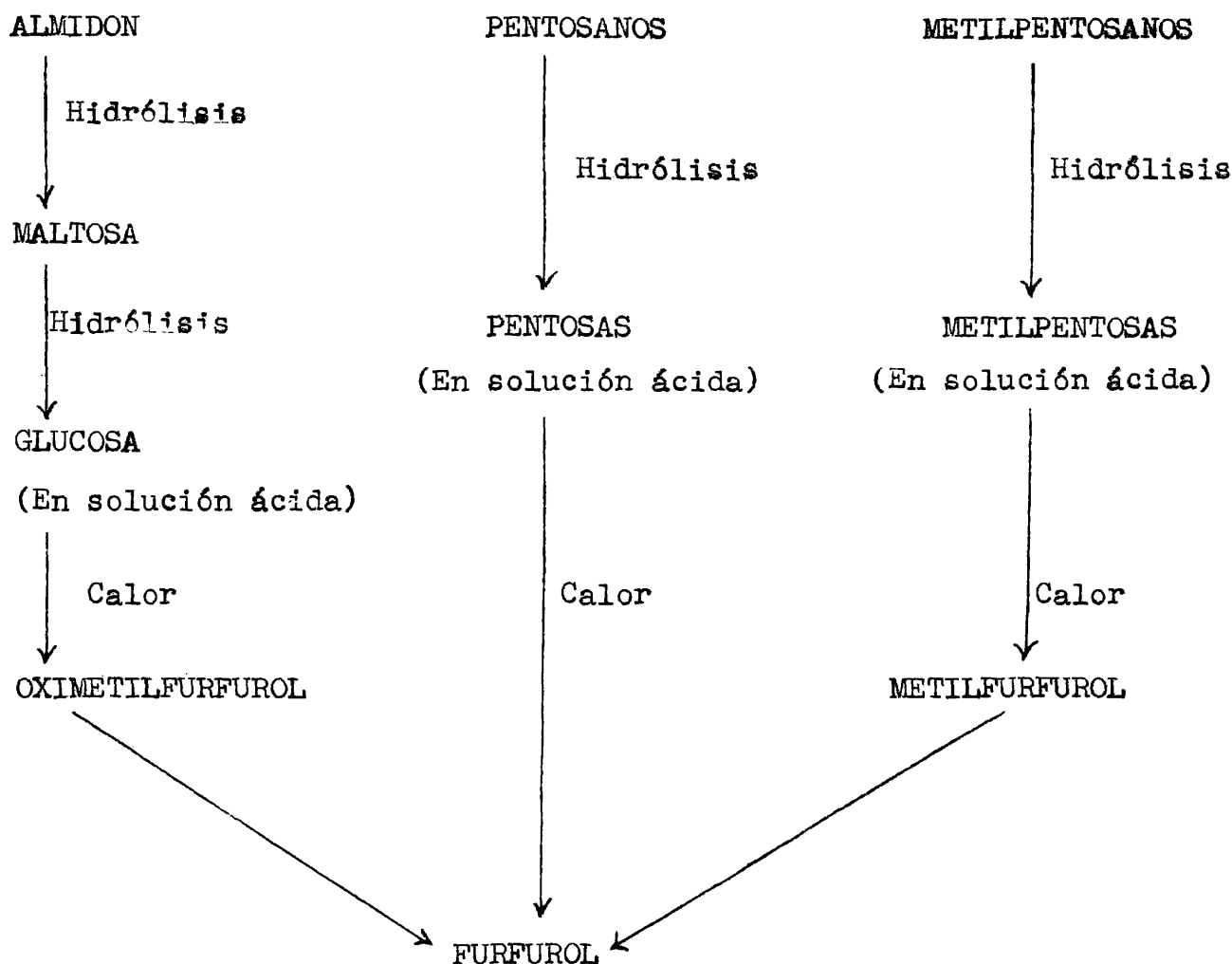
transformará luego en oximetilfurfurol b) pentosanos, que por hidrólisis originará pentosas que son las sustancias madres del furfurol y c) metilpentosanos, que por hidrólisis dan metilpentosas que originarán metilfurfurol, lo que en realidad existe en las bebidas fermentadas y destiladas es una mezcla de furfurol, metilfurfurol y oximetilfurfurol, si bien ~~este~~ este último no alcanza a pasar en la destilación más que en mínimas cantidades por su escasa volatilidad (I2).

Yamada ha demostrado a su vez que por repetidas destilaciones el metilfurfurol y el oximetilfurfurol se convierten en furfurol.

Pasquero y Cappa (I3) operando sobre vinos y cervezas procedían a la destilación directa de los mismos por una parte y previa neutralización con carbonato magnésico hasta obtener una ligera reacción alcalina por otra. Obtuvieron de este modo siempre en la destilación directa reacción positiva para el furfurol, mientras que en las destilaciones después de neutralización siempre se obtenían reacciones negativas, excepción hecha de los casos en que se había agregado caramelo o alcohol con furfurol antes de la destilación.

Demostraron de esta manera que el factor acidez en la formación del furfurol durante la destilación de las bebidas fermentadas es imprescindible.

Resumiendo: el origen de los furan-aldehidos existentes en las bebidas fermentadas y destiladas y cuya formación se efectúa durante el proceso de la destilación puede esquematizarse así:



Considerando que en la fabricación de las bebidas no se efectúan habitualmente destilaciones repetidas, el paso de metilfurfurol y oximetilfurfurol a furfurol casi no se efectúa y como además, se ha visto, que el oximetilfurfurol no es volátil en las condiciones en que se destilan las bebidas comunes, se encontrará en las bebidas fermentadas y destiladas furfurol y metilfurfurol en cantidades variables.

C) Formación durante el proceso de "maduración" o "añejamiento".

La mayor parte de las bebidas destiladas de calidad, son sometidas a un proceso de "maduración" o envejecimiento, con el fin de que por la acción del tiempo mejoren sus caracteres organolépticos y adquieran por un estacionamiento conveniente un refinamiento del olor y sabor característicos por transformaciones benéficas de sus componentes químicos fundamentales y por la homogeneización de los principios aromáticos con el alcohol etílico dominante.

Determinadas bebidas (whisky, brandy, etc.) se hacen madurar en toneles carbonizados interiormente, observándose en ellas, con el transcurrir del tiempo, una diferencia apreciable en su contenido de furfurol y de otros

elementos comprendidos en la categoría de las "impurezas".

Este aumento, con respecto al furfurool es debido según Cramton y Tolman (I4) al furfurool cedido por los toneles de madera cuyo interior al ser sometido a un proceso de carbonización son causantes de ese aumento por tratarse de uno de los principales derivados de la carbonización de los carbohidratos.

D) Presencia por agregado de caramelo como colorante.

La adición de caramelo como colorante en muchas bebidas alcohólicas, tales como aperitivos, bitter, fernet, etc. explica la existencia de furfurool en cantidades excesivas en las mismas.

Los diversos autores que han estudiado la cuestión no están de acuerdo sobre la temperatura en que el furfurool se transforma en el caramelo, pues así mientras unos afirman que recién se forma después de los 200°C, otros sostienen haberlo obtenido por simple ebullición de soluciones azucaradas.

A este respecto, Coppetti y Covre (I5) efectuaron la siguiente experiencia que se transcribe textualmente: "Se pesaba en una cápsula de platino II, 176 grs. de sacarosa pura (azúcar cande); se dejaba esta cápsula en la estufa a 125°-130°C hasta que perdiese 1,176 grs. de su peso.

En estas condiciones se ha transformado en caramelo. Esto se ha repetido haciendo variar la temperatura entre 125° y 200°C.

La presencia de furfurool fué constatada y dosada obteniendo los siguientes resultados para 1000 grs. de caramelo:

Ensayo	Temperatura	Furfurool en mgs.
I	125-130°C	89,25
2	145-150°C	101,66
3	160-165°C	205,86
4	180-185°C	122,24
5	190-195°C	117,26

De acuerdo a estos resultados se puede deducir que cualquiera sea la temperatura de caramelización siempre se produce furfurool aunque en proporción variable.

Esta proporción aumenta hasta un máximo comprendido entre los 160 y 165°C. A partir de esta temperatura la cantidad producida disminuye nuevamente, lo cual puede ser explicado por el hecho de que antes del máximo ^{la} temperatura no era suficiente para producir todo el furfurool posible y después se ha volatilizado en parte por que el furfurool hierve entre 160 y 162°C.

Vilar (16) en una interesante nota, en cambio sostiene que se forma furfurool a temperatura mayor.

Detallando el modo operatorio expresa este autor: "Tomé 100 cms.³ de jarabe simple de D=1,26 a 15°C hecho con azúcar refinada, lo puse en balón común de destilación fraccionada, unido a un refrigerante y destilé usando tela de amianto y poco fuego para evitar la carbonización en los costados. El líquido empezó a hervir a 104°C teniendo el termómetro sumergido en el líquido. Recogí las siguientes porciones:

	cms. ³	Furfurool por mil
De 104° a 150°C	42	0
" 150° a 170°C	8	0

"A esta temperatura empecé a hervir el líquido en una solución alcohólica de anilina y ácido acético, destilando muy lentamente, apareciendo la reacción del furfurool cuando el termómetro marcaba 180°C. De 170° a 200°C se recogieron estas fracciones:

	cms. ³	Furfurool por mil
De 170° a 180°C	2	rastros
" 180° a 200°C	5	2

"A 200°C quité el fuego, agregué 30 cms.³ de agua y luego una mezcla de 50 cms.³ de agua y 50 cms.³ de alcohol y destilé hasta que solo acusó rastros de furfurool. Se obtuvo:

	Furfurool por mil	Furfurool en 100 cms. ³
1ª Destilación	0,900	0,090
2ª "	0,044	0,0044
3ª "	0,003	0,0003
4ª "	rastros	
	Total	0,0947

que corresponde a 100 cms.³ de jarabe que da alrededor de 2,20 grs. de furfurool por mil gramos de caramelo".

El contenido de furfurool en los caramelos industriales, según estos auto-

res y según el método de fabricación varía entre 0,40 y 1 gramo por mil con un término medio de alrededor de 700 a 750 miligramos por mil. En consecuencia toda bebida que tenga un agregado lícito o ilícito de caramelo, presentará furfurool.

E) Incorporación ilícita de alcoholes impuros.

El agregado ilícito de alcoholes mal rectificadas a las bebidas, con el fin de aumentar el grado alcohólico de las mismas, puede producir una elevación de la cantidad de furfurool, siempre que el agregado de alcohol se haya efectuado después de concluida la fermentación, pues en caso contrario ya se ha visto que el furfurool desaparece.

Siendo el alcohol un producto que se obtiene por fermentación y rectificación, por destilación se formará en él furfurool de acuerdo al mecanismo indicado en a) y en b); pero es evidente que un alcohol bien rectificado, de buena calidad, no debe dar la reacción del furfurool ya que éste es completamente eliminado durante la rectificación. Un alcohol de inferior calidad, mal rectificado, denotará, en cambio, la presencia de furfurool en proporciones acentuadas.

En consecuencia, cuando con propósitos fraudulentos se agrega alcohol de mala calidad a una bebida para aumentar su grado alcohólico, se aumenta también su contenido en furfurool, aunque, como se verá luego estas bebidas adulteradas suelen presentar en muchos casos un contenido de furfurool inferior al normal, por haber sido preparadas de un modo sintético, suprimiéndose el inconveniente de lo que se podría llamar formación normal del furfurool en las bebidas fermentadas y destiladas.

CRITERIO HIGIENICO PARA JUZGAR EL GRADO DE NOCTIVIDAD DE LAS
BEBIDAS EN GENERAL POR SU CONTENIDO EN FURFUROL. LIMITES AD-
MITIDOS.

Siendo el alcohol etílico el constituyente principal de las bebidas alcohólicas, pasaremos una rápida revista en lo que se refiere a su acción tóxica.

La intoxicación por este cuerpo, presenta varias fases de acuerdo a las crecientes cantidades ingeridas. A dosis moderadas, su ingestión provoca primeramente un estado de marcada excitación con aumento de la fuerza muscular, nerviosidad instantánea, facilidad de locución, etc.; dosis mayores producen aturdimiento, sopor o embriaguez, en la cual son muy variables los síntomas que se suceden, tales como titubeo en el caminar, trastornos y desórdenes visuales, zumbidos de oídos, pérdida de la inteligencia y del sentido moral, disminución de la temperatura, etc.

Aumentando aún más la dosis ingerida se produce el aniquilamiento del organismo y la muerte del individuo como una consecuencia de cantidades que varían con cada individuo ya que intervienen diversos factores tales como la edad, la constitución física y vitalidad, el acostumbramiento, el buen o mal funcionamiento renal, etc.

Según las experiencias de Dujardin-Beaumetz y Audigé (17) la dosis de alcohol etílico suficiente para matar a un perro es de 7,75 g. por kg. de animal.

Teniendo en cuenta que en las bebidas destiladas, acompañan al alcohol etílico otras diversas sustancias que se encuentran en cantidades variables, tales como los alcoholes superiores, aldehidos, furfurool, ácidos,

aceites esenciales, etc., es lógico que la toxicidad de una bebida sea superior a la de un alcohol de la misma graduación que la bebida considerada. Este hecho fué señalado por Whitney (I8) quien sostenía que el efecto tóxico de las bebidas alcohólicas depende no solamente de la concentración alcohólica, sino también de los constituyentes no alcohólicos tales como ésteres, aldehidos, esencias, etc.

Este autor operaba con rotíferos y sostenía que cada bebida produce un tipo diferente de embriaguez, característico para cada una de ellas; la que es debido, en parte al menos, a los constituyentes no alcohólicos de las bebidas.

Abel (I9) critica la obra de Whitney y afirma que los ésteres, aldehidos etc. constituyen el aroma o "bouquet" de las bebidas, pero que no tienen la importancia que les atribuye el autor, pretendiendo demostrar a su parecer que el alcohol etílico es el principal agente pernicioso de las bebidas alcohólicas.

Se ha dicho ya, que según opiniones muy autorizadas una bebida es más tóxica que un alcohol etílico de la misma graduación debido a las otras substancias que lo acompañan. Así se observa que la absorción del alcohol etílico puro, tanto en el hombre como en los animales, no **pp**rovo-ca los accidentes convulsivos y epileptiformes que se observan con ciertas bebidas alcohólicas.

Por otra parte, la toxicidad de un aguardiente ordinario oscila entre 7,05 g. y 7,10 g. por kilogramo de animal, o aún menos 6,7 g. a 7,2 g. (Dujardin-Beaumetz y Audigé), en contra de los 7,75 g. que se ha señalado para el alcohol etílico.

Como dato ilustrativo se dan a continuación algunos equivalentes tóxicos experimentales de diversos alcoholes y aldehidas tomados de la obra de Joffroy y Serveaux (20)

Alcohol metílico.....	25,23	cm. ³	por	kg.	de	animal
" etílico.....	11,70	"	"	"	"	"
" propílico.....	3,40	"	"	"	"	"
" isopropílico.....	1,45	"	"	"	"	"
" amílico..	0,65	"	"	"	"	"
Acetona.....	5,27	"	"	"	"	"
Aldehida.....	1,14	"	"	"	"	"
Furfurol.....	0,24	"	"	"	"	"

En cuanto a los equivalentes tóxicos verdaderos que los mismos autores definen como "la cantidad de materia tóxica que es necesaria y suficiente para producir por ella misma la muerte de un kilogramo de animal en un corto tiempo", dan los siguientes valores:

	Perro	Conejo
Alcohol metílico puro..	9	10,90
" etílico puro.....	6,92	6,52
" " comercial.....	6,36	6,90
Furfurol.....	0,20	0,14

De todas estas sustancias tóxicas, frecuentemente presentes en las bebidas espirituosas nos ocuparemos en particular y en forma especial del furfurol.

A este respecto, Joffroy y Serveaux (l.c.) afirman que el furfurol es un veneno convulsionante, que determina desórdenes considerables en la respiración y la temperatura, y como antecedente agregan los siguientes

equivalentes tóxicos experimentales para diversos animales:

para el perro.....	0,20 g. a 0,23 g.	por kg. de animal				
" " conejo.....	0,24 g.		"	"	"	"
" " cobayo.....	0,18 g. a 0,24 g.		"	"	"	"

En cuanto a los equivalentes tóxicos verdaderos dan los datos siguientes:

para el perro.....	0,17 g. a 0,25 g.	por kg. de animal				
" " conejo.....	0,09 " " 0,10 "		"	"	"	"
" " cobayo.....	0,17 "		"	"	"	"

Admitiendo pues, que el hombre sea tan sensible a la acción del furfuro^l como el conejo, son necesarios alrededor de 10 g. de furfuro^l presentes en el torrente sanguíneo, para producir la muerte de un hombre de 70 kg. de peso, es decir una cifra infinitamente superior a la que se encuentra en un litro de una bebida alcohólica común.

Lewin (21) dice que el furfuro^l inyectado bajo la piel de animales de ~~animales~~ sangre fría, produce a la dosis de 0,1 g. la abolición de los reflejos y la detención del corazón y de la respiración. Para provocar en los perros parálisis motriz, desaparición de reflejos, ptialismo e hiperhidrosis, son necesarios de 3 a 4 g. de furfuro^l. Agrega luego este interesante concepto: "el furfuro^l introducido en el estómago lleno de alimentos no ejerce acción tóxica, mientras que puede dar origen a fenómenos de intoxicación cuando es ingerido en ayunas".

Por su parte, Hewitt (1.c.) declara que el furfuro^l no tiene buena reputación en lo que se refiere a su acción fisiológica, y llama la atención sobre un trabajo de Sir Lander Brunton y el profesor Tunnicliffe,

publicado en el "Lancet" de Diciembre de 1900, en el que señala no solo efectos perniciosos en perros sino también en hombres, para quienes indican que la dosis de 0,096 g. de furfuro^l produce una cefalalgia persistente.

Coppetti y Covre (l.c.) consideran al furfuro^l como una de las impurezas más peligrosas de los alcoholes y aconsejan prohibir de un modo terminante el empleo de caramelo porque este contiene furfuro^l, prohibición que debería extenderse como es lógico hasta los productos de confitería que contengan caramelo (azúcar caramelizado).

Mc Guigan (22) establece que una solución de furfuro^l al 2% inhibe totalmente la acción de fermentación de la dextrosa, mientras que una solución al 1% solamente la retarda y soluciones diluidas no ejercen en cambio influencia alguna. El furfuro^l en dosis crecientes ocasiona irregularidades en la marcha, inhibición para el sostén y finalmente parálisis en el conejo; la respiración a su vez es estimulada primero y se vuelve irregular después.

A dosis más elevadas se produce cianosis, aumento de reflejos al principio, que luego decrecen con el aumento de las dosis. La dosis mortal por vía estomacal, según este autor es de alrededor de 0,8 cm.³ por kg. de peso; en solución al 5% y en dosis de 0,6 cm.³ por kg. de peso produce somnolencia en los gatos. En dosis altas tiene una acción paralizante en las ranas, similar a la producida por el cloral. Localmente es corrosivo y anestésico.

Estas opiniones fueron confirmadas por Muer, Trickey y Brownee (23).

Ciertos animales llegan a soportar 0,25 cm.³ sin ninguna manifestación tóxica, afirma Gander (24) mientras que dosis superiores a 0,3 cm.³ determinan parálisis y convulsiones en los conejos.

Ogier y Kohn Abrest (25) sostienen que se le ha atribuido al furfurool una gran importancia en los efectos tóxicos de las bebidas, importancia quizá exagerada. Vendría a corroborar esta opinión de Ogier el moderno trabajo sobre "Importancia farmacológica del alcohol furfurílico y del furfurool en las infusiones de café" efectuado por Klisinius (26) quien declara que el alcohol furfurílico y el furfurool dado "per os" en cantidades comprendidas entre 30 y 60 mg. no produce ningún efecto en el hombre. Dosis diarias de 1 g. de alcohol furfurílico o de furfurool no producen efecto en perros. El furfurool, es por otra parte, 21 veces más activo que el etanol sobre el intestino de conejo y tiene un efecto narcótico 63 veces mayor que el etanol sobre el pez dorado.

De todos estos antecedentes se deduce que la nocividad de las bebidas en general por su contenido en furfurool no es apreciable, debido a la escasa cantidad de furfurool en ellas presente, a lo cual debe agregarse la reducida cantidad de bebida que, normalmente se ingiere por vez. Claro está que siempre, como ya se indicó, la bebida es más tóxica que un alcohol de la misma graduación que la bebida considerada.

El furfurool en cantidades entre 30 y 60 mg. ingeridos "per os" no producen ningún efecto en el hombre. Si suponemos pues una bebida (whisky, cognac, rhum, etc.) de un tenor alcohólico medio de 50% en volumen que contenga el máximo de furfurool admitido por nuestra legislación (0,040g por litro de alcohol absoluto), será necesaria la ingestión de 1,5 a 3

litros de dicha bebida para absorber los 30 a 60 mg. de furfurol, que parecen ser inofensivos para el organismo humano. Es evidente que ni el bebedor más indiscreto y consuetudinario tomará ~~esta~~ cantidad de bebida en corto lapso de tiempo. Considerando la misma bebida y teniendo en cuenta que son necesarios 0,096 g. de furfurol para provocar cefalalgia por la acción exclusiva del furfurol, en ningún caso será posible llegar a provocarla, pues serían indispensables 4,8 litros de bebida, cantidad imposible de ser ingerida por un hombre normal.

Por otra parte, en el caso de ingerirse gran cantidad de bebidas, serán los otros constituyentes entre ellos el alcohol principalmente y demás elementos secundarios tóxicos que lo acompañan, los que producirán su efecto antes que el furfurol. Conviene recalcar que si bien la toxicidad absoluta del furfurol es superior a la de los otros constituyentes tóxicos, estos se encuentran siempre en cantidades mucho mayores que el furfurol.

Además de estas razones, es oportuno dejar constancia que no teniendo propiedades acumulativas, el furfurol no sería capaz de producir intoxicaciones por sucesivas dosis de mínimas cantidades ingeridas. Agregaremos, finalmente, que el furfurol en dosis débiles es un excitante del sistema nervioso central.

En lo referente a las cantidades de furfurol admitidas en las distintas legislaciones, mencionaremos aquellas que contienen prescripciones más precisas.

En Rumania, una antigua Reglamentación del II de Septiembre de 1895 (Art.

18) fija como límite máximo la cantidad de 0,01 g. por ciento.

En España por Ley-Decreto sobre vinos y sus derivados, dictado el 29 de Abril de 1926, por S.M. el Rey Alfonso XIII, se impone como límite máximo la cantidad de 0,02 g. por litro.

En nuestro país, por Decreto del 5 de Agosto de 1901, parágrafo 3, se prohibía la presencia del furfurool en los alcoholes. Se libró luego al criterio de las oficinas químicas, por un decreto posterior, el fijar la cantidad de furfurool a permitirse.

Por Decreto Nacional del Poder Ejecutivo dictado el 18 de Octubre de 1929, se expresa que: "solo se tolerará el furfurool hasta el 0,04 g. por mil en alcohol anhidro cuando vayan a entrar al consumo directo y el 0,06 g. por mil cuando se destinen a ser manipulados antes del expendio.

Por un Decreto Nacional posterior, del Poder Ejecutivo dictado el 12 de Noviembre de 1936, se modificó la resolución anterior de la siguiente manera: "en todos estos casos se tolerará el furfurool hasta la proporción de 0,04 g. por mil en volumen de alcohol anhidro cuando vayan a entrar al consumo directo y la de 0,08 g. por mil de alcohol anhidro, en volumen, cuando se destinen a ser manipuladas antes del expendio".

El artículo 135 del Reglamento Bromatológico de la Provincia de Buenos Aires, por disposición especial considera inaptas para el consumo, y como tales decomisadas en el acto, las bebidas alcohólicas naturales y artificiales que contengan furfurool en cantidad que exceda de 40 miligramos por litro, calculado en alcohol absoluto.

En el capítulo respectivo se ampliarán estos antecedentes para documentar en forma más adecuada las tolerancias y prohibiciones referentes a las impurezas alcohólicas y en especial al furfurol, motivo principal de nuestro estudio e investigaciones analíticas.

ESTUDIO TEORICO Y EXPERIMENTAL DE LOS METODOS FISICOS Y QUIMICOS PROPUESTOS PARA LA EVALUACION DEL FURFUROL: METODOS CONVENCIONALES Y PROCEDIMIENTOS OFICIALES

Varios son los métodos que han sido propuestos para la evaluación del furfurool:

1º) Métodos gravimétricos: basados en el empleo de la floroglucina, fenilhidracina, ácido barbitúrico, ácido tiobarbitúrico, 2-4 dinitrofenilhidracina, malonilguanidina, reactivo de Fehling, amoníaco, pirogalol, etc

2º) Métodos volumétricos: que utilizan el reactivo de Nessler, hidroxilamina, bromuro-bromato de potasio, reactivo de Fehling, bisulfito de sodio, óxido de plata, etc.

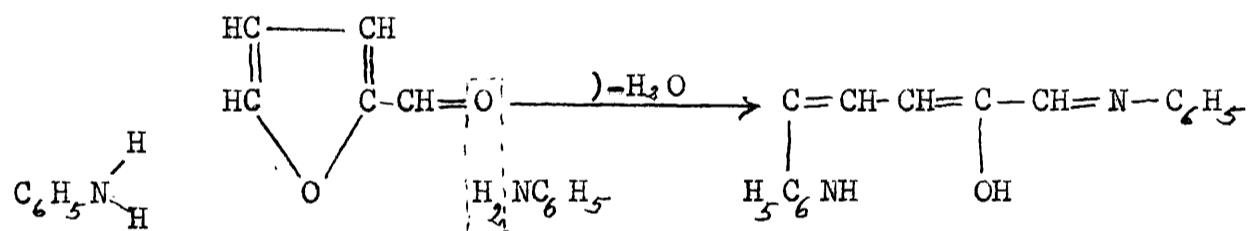
3º) Métodos colorimétricos: en los cuales se emplean orto-anisidina (Wasichy y Fredhem), b) acenaftene (Remo de Fazi), c) acenaftenona (Remo de Fazi), d) acetona (Nikitin), e) acetofenona (Nikitin), f) 2-4 dinitrofenilhidracina (Simon 1932 y Barta 1934), g) ácido dimetilbarbitúrico (Akabori), h) ácido barbitúrico (Akabori), i) orcina (Fleury y Poirot), j) acetato de anilina (Schiff), k) xilidina (Suminokura y Nakahara), l) resorcina y ácido clorhídrico (Seliwanoff), etc.

Para la evaluación del furfurool en las bebidas, los métodos gravimétricos y volumétricos no son aplicables ni recomendables por las pequeñas cantidades de furfurool presente en ellas, sin dejar de considerar que la mayor parte de estos procedimientos no se fundan en reacciones específicas.

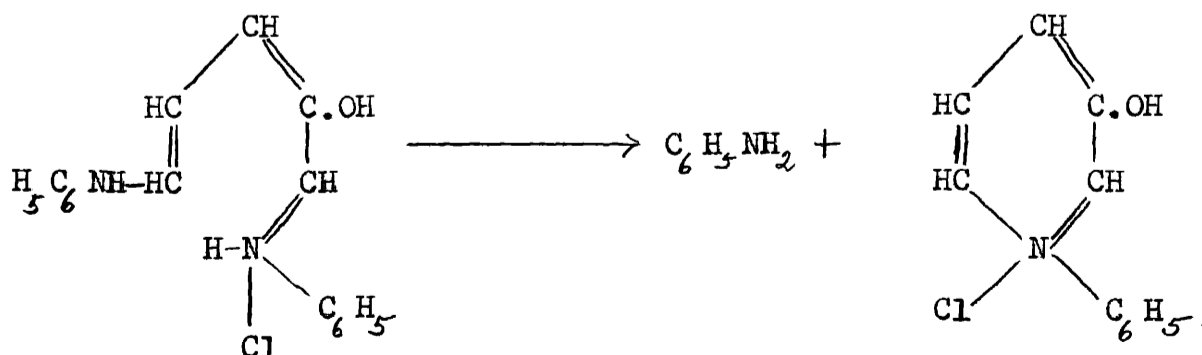
De los métodos colorimétricos, en su mayor parte solamente son aplicables cuando no se encuentran presentes otras aldehidas, pues en ellos se emplean comunmente reactivos de la función aldehídica y no reactivos específicos del furfurool (tal el caso de la o-anisidina, acenaftenona, etc)

Otros reactivos (acetona,orcina)no tienen por su parte,una sensibilidad suficiente para la evaluación de furfurol en bebidas.La orcina(27) por ejemplo,solo alcanza a develar 1g.de furfurol en 100.000 cms³,lo que no es aceptable para el caso tratado.

Solo nos quedaría,pues,el clásico método de las sales de anilina,que es específico para el furfurol y cuya sensibilidad es apropiada para determinaciones cuantitativas de éste en las bebidas fermentadas y alcohólicas,método al cual debemos agregar el de la m-xilidina (4 amino 1-3 dimetilbenceno) propuesto por Suminokora y Nakahara (28). La reacción de las sales de anilina con el furfurol,que da origen a una hermosa coloración roja violácea,fué indicada por Schiff (29),aunque el mecanismo de la reacción fué explicado,muchos años después simultaneamente por Zincke y Mülhausen (30) en 1905.Según estos autores,en esta reacción,el anillo furánico experimenta una "aminolisis" lo que se representa en la fórmula siguiente:



La materia colorante formada está constituida,en consecuencia,por una sal del diamilo del dialdehido del ácido oxiglutacónico. Estas sales coloreadas,operando en caliente se transforman en la sal cuaternaria del oxipiridonio,por pérdida de una molécula de anilina, como se deduce en estas otras fórmulas:



Pasaremos ahora,una revista general de los métodos aconsejados para

la evaluación del furfurool en las bebidas:

1º) Método de Hewitt (31).

Si la bebida es incolora, puede usarse directamente para la evaluación del furfurool; si no lo fuera deben separarse 50 cms³ de la muestra y destilarla hasta casi la última gota. Luego se agrega alcohol al residuo y vuelve a destilar hasta casi la última gota. Se repite esta operación 3 ó 4 veces; reunir los líquidos destilados y llevar a un tenor de 50% de alcohol en volumen anotándose el volumen final. En 2 tubos cilíndricos, graduados en centímetros cúbicos y del mismo diámetro se colocan 20 cms³ del destilado en uno de los tubos y una cantidad de "solución tipo" con un contenido de furfurool aproximado al de la bebida y completado a 20 cms³ con alcohol purísimo en el otro. Se adiciona a cada tubo 1 cm³ de solución de acetato de anilina (volúmenes iguales de anilina recién destilada, ácido acético y agua; hierve durante 5 minutos y deja enfriar) y después de un contacto de 10 minutos, se observa mirando a través de las bebidas y ajustan los matices por adición de alcohol a 50% en volumen en uno u otro tubo.

Las "soluciones tipo" se preparan de modo tal, que contengan 10-1 y 0,1 mgr. de furfurool por litro de alcohol de p.e.= 0,920.

2º) Método Schidrowitz (32).

Una porción de la bebida se decolora con solución saturada de acetato de plomo, luego se precipita el exceso de plomo, por adición de sulfato de potasio y se filtra.

A 20 cms³ del líquido filtrado y a 20 cms³ de "solución tipo" se agregan 1 cm³ de solución de acetato de anilina (5 cms³ de anilina y 10 cms³ de ácido acético glacial). Si el matiz de la coloración (no la intensidad) difieren, se deben igualar con tintura de nuez de agallas y comparan después de 20 minutos de contacto.

3º) Woodman, en su obra "Food Analysis" (33), recomienda el siguiente método: medir 10 ó 20 cms.³ del líquido destilado de las bebidas y llevarlo a 50% de alcohol en volumen, en un tubo de Nessler de 100 cms.³, agregar 25 cms.³ de alcohol libre de furfurool y 25 cms.³ de agua. Sumergir el tubo en un baño de agua a 15°C. Operar simultaneamente en idéntica forma con varios testigos que contengan 0,5-1,0-2,0 y 4,0 cms.³ de la "solución tipo" preparada como veremos enseguida. Mantener los tubos en el baño de agua durante 10 minutos para que adquieran la temperatura del baño, agregar enseguida a cada tubo 2 cms.⁵ de anilina redestilada y 0,5 cm.³ de ácido clorhídrico (p.e.=1,125).

Dejar los tubos en el baño durante 15 minutos y practicar de inmediato la comparación colorimétrica.

Para preparar las "soluciones tipo" se pesa 1 gr. de furfurool redestilado y se disuelve en cantidad suficiente de alcohol, al 95% en volumen, para completar 100 cms.³. Luego se mide 1 cm.³ de esta "solución madre" y completar también a 100 cms.³

Un cm.³ de esta solución contiene 0,0001 gr. de furfurool.

4º) Método Denigés (34).

Se introduce en un tubo 10 cms.³ del destilado de la bebida llevado al 50% de alcohol, en volumen, se agregan 0,5 cm.³ de anilina recién destilada y 2 cms.³ de ácido acético libre de furfurool.

Al término de 20 minutos se compara al colorímetro con "solución tipo" tratada del mismo modo.

Como "solución tipo" se usa una solución que contenga 0,010 gr. de furfurool por litro de alcohol a 50% en volumen.

5º) Método Suminokura y Nakahara (l.c.)

Estos autores recomiendan reemplazar la anilina por la meta xilidina, con lo cual se obtendría una coloración mas estable que la producida

por la anilina, conservándose el carácter específico de la reacción.

6º) Cox (35) expresa que el método de Hewitt, anteriormente detallado, es quizá, el mejor a pesar de las críticas de Schidrowitz. Este autor describe el siguiente método, que tiene ligeras modificaciones con respecto al procedimiento de Hewitt:

50 cms.³ de bebida se destilan hasta pequeño volumen, se agrega alcohol piro al residuo y repite la destilación. Se repite esta operación varias veces, se reúnen los destilados y después de llevarlos a 50% de alcohol en volumen se anota el volumen final.

A 10 cms.³ de este destilado, se agrega 1 cm.³ de solución de acetato de anilina (volúmenes iguales de anilina y ácido acético glacial) y comparar la coloración obtenida después de 30 minutos, con la que se haya producido empleando 10 cms.³ de una solución que contiene 0,010 gr. de furfurool por litro de alcohol al 50% en volumen.

7º) Allen (36) en su obra adopta el método de Hewitt, pero agrega que el alcohol usado para las "soluciones tipo", como así también el utilizado para las diluciones que puedan ser necesarias, debe ser un alcohol exento de aldehidas.

8º) Método de la Association of Official Agricultural Chemists (37).

Se miden 100-200 cms.³ de bebida, agregan 12,5-25 cms.³ de agua, y destila lentamente hasta recoger 100-200 cms.³; 10 a 20 cms.³ de este destilado se diluyen en un tubo apropiado hasta 50 cms.³ con alcohol libre de furfurool al 50% en volumen, se agregan 2 cms.³ de anilina incolora y 0,5 cm.³ de ácido clorhídrico (p.e. = 1,125). Se mantiene por 15 minutos el tubo en ba-

ño de agua a 15°C y observa con "soluciones tipo" preparadas por la misma técnica operatoria.

las "soluciones tipo" más convenientes en la práctica contienen 0,05-0,1-0,15-0,20-0,25 y 0,3 mgr. de furfurool.

Este método es el oficial en Estados Unidos de Norte América y es el mismo indicado por Woodman en su obra ya citada.

9º) Método de Vagezzi y Haller (38).

El líquido destilado de la bebida, obtenido por la técnica común, se lleva a 40% de alcohol en volumen. A 10 cms.³ de este destilado se agrega 1 cm.³ de ácido acético glacial y 0,3 cm.³ de anilina incolora, se mezcla, deja en reposo 5 minutos y compara con "solución tipo".

Estas "soluciones tipo" se preparan de acuerdo a las siguientes normas: se disuelve 0,1 gr. de safranina en agua destilada y completa el volumen hasta 500 cms.³. Se deja en reposo por varias horas y luego se decanta. Enseguida se prepara una serie de diluciones con alcohol al 10% en volumen según la siguiente tabla:

Serie de soluciones tipos de 0,02% de safranina para evaluar el furfurool por acetato de anilina

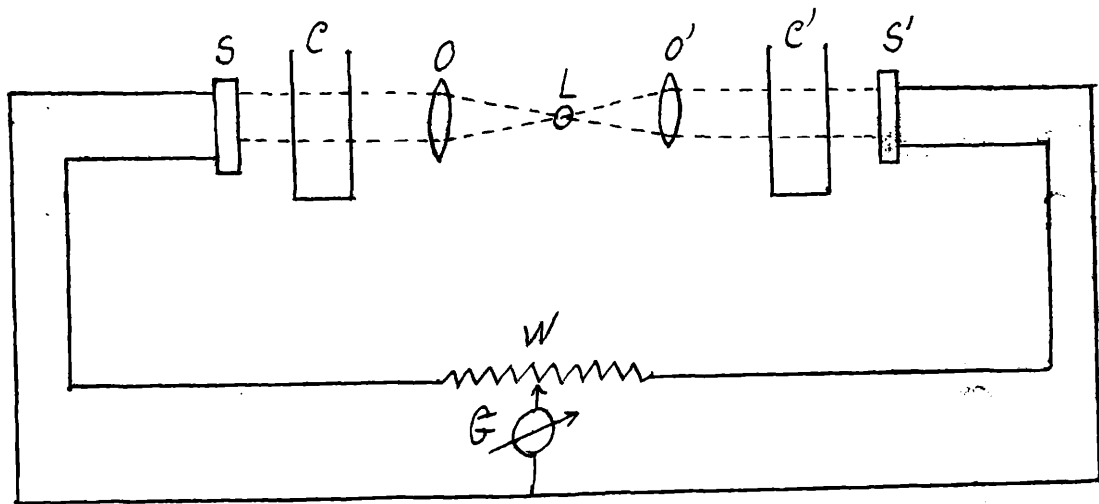
Volumen de solución de safranina al 0,02% en cms. ³	Volumen de alcohol al 10% en cms. ³	Furfurool por mil
1,27	100	<u>0,002</u>
3,1	100	<u>0,004</u>
4,2	100	<u>0,006</u>
5,2	100	<u>0,008</u>
6,4	100	<u>0,010</u>

Las soluciones acuosas se vuelven pardas y las alcohólicas violetas.

10º) Método Mohler y Benz (39).

Estos autores dan un método fotoeléctrico, basado en la coloración roja que el furfurool da con el acetato de anilina.

Usan para ello el aparato representado en el siguiente esquema:



S y S' son dos células fotoeléctricas

C y C' las cubas destinadas a contener los líquidos.

O y O' son dos lentes

L la fuente luminosa

W es una resistencia variable

G es un galvanómetro

Para efectuar las determinaciones se introduce en cada cuba 20 cms.^3 de agua destilada; se colocan las cubas en el circuito y se lleva el galvanómetro a cero, por intermedio de la resistencia variable W .

Se vacía luego la cuba C , en la cual se colocan 20 cms.^3 de la solución a examinar llevada al 40% de alcohol en volumen, se agregan 10 gotas de anilina recientemente destilada y 2 cms.^3 de ácido clorhídrico concentrado; se agita con una varilla de vidrio. Al término de 15 minutos se hace la lectura. El contenido de furfurool se obtiene llevando esta lectura sobre una curva patrón trazada en forma análoga a partir de distintas concentraciones conocidas de furfurool.

Se puede aumentar todavía la precisión del aparato, con la aplicación de

un filtro coloreado complementario.

II^o) Método oficial en Italia.

Villavecchia (40) lo detalla en su obra en esta forma:llevar el líquido destilado de la bebida a 50% de alcohol en volúmen;y a 10 cms.³ de este destilado corregido se agregan 10 gotas de anilina incolora y 1cm.³ de ácido acético concentrado.Después de un reposo de 20 minutos se compara en el colorímetro de Duboscq con una "solución tipo" tratada del mismo modo.

Como "solución tipo" se debe utilizar una solución que contenga 0,005 g de furfurool por litro de alcohol puro al 50% en volúmen.

Este mismo método es el utilizado en las Oficinas Químicas Nacionales de nuestro país.

I2) Método Ling/

A simple título informativo citamos este método que se basa en la reducción del reactivo de Fehling por el furfurool,y en la titulación del exceso de sal cúprica por una solución de glucosa de título conocido. Este método fué rápidamente abandonado por ser completamente incómodo e inseguro.

Comentarios sobre los métodos de determinación del furfurool.

Examinando los métodos citados,se puede deducir que ellos difieren por las cantidades de reactivos usados;por la temperatura a la cual debe efectuarse la reacción que algunos autores la consideran y otros nó;por la naturaleza del ácido orgánico o inorgánico empleado;por el grado alcohólico en que se efectúa la reacción;por el modo de privar de las materias colorantes a las bebidas (defecación,destilación) y por el fac-

tor iluminación,pués,como veremos más adelante,Youngbur y Poucher asignan a sus variaciones gran importancia.

Se estudiaron detenidamente estos distintos factores por separado con el fin de comprobar las influencias favorables o desfavorables de cada uno de ellos,y para poder establecer en consecuencia las condiciones más convenientes para efectuar esta reacción.

En todas las experiencias que se detallarán más adelante se ha usado furfurool "pro-analisis" de la marca Riedel,recientemente destilado;ácido acético purísimo (99-100%) de la casa E.Merck,anilina "pro-analisis" tambien de la fábrica de E.Merck recién destilada y ácido clorhídrico de E.Merck.

El ácido acético,así como el alcohol requerido para las experiencias, deben estar completamente privados de furfurool.

La pureza del alcohol se ha ensayado siguiendo este método preconizado por Scott (4I);a 250 cms.³ de alcohol se agregan 30 cms.³ de aguandestilada,se destila y recogen 250 cms.³.A 20 cms.³ de este destilado se agregan 2 cms.³ de anilina y 0,5 cms.³ de ácido clorhídrico diluido (5:4):enseguida se observa si se produce alguna coloración.

Para ensayar el ácido acético se usaron 2 cms.³ del ácido a los que se agregaron 10 cms.³ del alcohol privado de furfurool (ensayado anteriormente) y reducido al 50% en volúmen,y 0,5 cms.³ de anilina recién destilada.En nuestros ensayos no se observó coloración ninguna.

Considerando que la anilina por acción del tiempo se colorea en amarillo,tinte que se va acentuando hasta llegar a ser pardo oscuro,debe

siempre cuidarse de emplear la que esté totalmente incolora o bien someterla a una purificación por redestilación.

Para las "soluciones tipo" de acuerdo a Allen (l.c.) se comenzó por privar de aldehidas al alcohol para lo cual se utilizó el modo operatorio siguiente: a 100 cms³ de alcohol se agregaron 2 g. de clorhidrato de meta-fenilendiamina, se hizo hervir primeramente en aparato a reflujo durante 1 hora, después de enfriamiento se cambió el refrigerante por otro descendente y se procedió a la destilación final.

Operando de este modo se comprobó la presencia de vestigios de aldehidos en el alcohol, frente al reactivo de Schiff.

Se ensayaron luego los métodos propuestos por Allen y por Scott (obras citadas).

Allen, por su parte, agrega que se debe calentar en aparato a reflujo con hidróxido de potasio, destilar y recoger solamente la porción que destila entre 78° y 80°C.

Scott, en cambio, indica tratar 1,5 litros de alcohol etílico al 95% con 25 g. de hidróxido de sodio, se destila dejando unos 100 cms³. A ese líquido destilado se agregan 25 g. de hidroclorehidrato de meta-fenilendiamina y calienta por varias horas a baño maría y a reflujo. Luego se destila despreciando los primeros 100 cms³ y dejando alrededor de 200 cms³ en el balón de destilación.

Diversas porciones de alcohol tratadas por estos dos últimos métodos, dieron una débil reacción positiva con el reactivo de Schiff para los aldehidos.

Se compararon luego las reacciones producidas por furfurool al 0,005 gs. por litro con alcohol común, es decir con alcohol con cierto contenido de aldehidas y con alcohol privado de aldehidas, no observándose ninguna ventaja en el uso de alcohol sin aldehidas; razón por la cual se usará en lo sucesivo alcohol común sin furfurool.

Para las "soluciones tipo" se ha preparado una "solución madre" de este modo: se pesa 1 g. de furfurool recién destilado se disuelve en alcohol y completan 100 cms.³ con alcohol, libre de furfurool, de 96% en volúmen. Se prepararon a partir de ella las diluciones necesarias con alcohol al 50% en volúmen y sin furfurool.

Así, para hacer una solución que contenga 0,10 g. por litro de furfurool, se separa 1 cm.³ de la "solución madre" y se lleva a 100 cms.³. Un cm.³ de esta solución contiene 0,0001 g. de furfurool.

Para la solución de 0,005 g. por litro se midieron 5 cms.³ de esta última solución al 0,10 g. por litro y se completaron a 100 cms.³ con alcohol al 50% en volúmen y sin furfurool. Un cm.³ de esta solución contiene 0,000005 g. de furfurool.

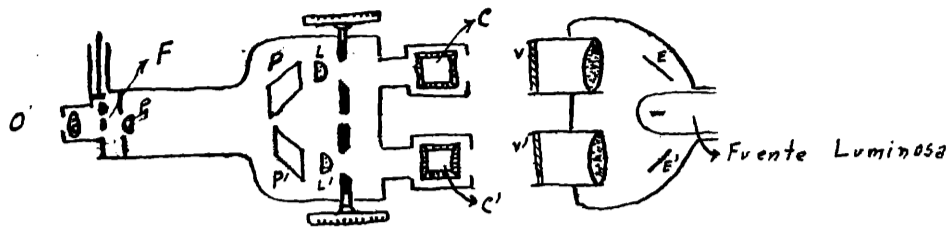
La "solución madre" se conserva perfectamente en frasco de vidrio oscuro, mientras que las soluciones diluidas en cambio son de conservación precaria.

En lo sucesivo al decir solución de furfurool al 0,005 g. por mil nos referiremos a una solución tal que contenga 0,005 g. de furfurool en 1000 cms.³ de vehículo.

Titulación de las soluciones de furfurool.

En el transcurso de las experiencias que se detallarán más adelante, se

ha usado el Fotómetro de Pulfrich, modelo Carl Zeiss, cuyo esquema, principio y detalles operatorios son los siguientes:



En este aparato la luz producida por la fuente luminosa, que es una lámpara fotométrica de baja tensión (8 volts) con filamento en espiral orientado según su eje, es reflejada por los espejos E y E' dispuestos en el interior de la lámpara a 45° y luego atraviesa las lentes y los vidrios despulidos V y V'.

Se obtienen así dos rayos paralelos de luz, con una separación de 7 cms. entre los ejes de los mismos.

La iluminación así obtenida es de alrededor de 4000 lux.

Estos rayos atraviesan las cubas de vidrio C y C' destinadas a contener los líquidos en examen, para ir luego a caer en las lentes L y L' y reunirse en un campo visual único por medio de los prismas P y P' y del doble prisma P₁ en el ocular O, luego de atravesar el filtro F.

El ajuste del aparato está hecho de modo que coinciden los ejes ópticos de ambos anteojos y por lo tanto los centros de las imágenes de los orificios cuadrados de entrada. Estos orificios de entrada se ven cuadrados cuando se mira por una lupa que el aparato lleva superpuesta al ocular. Al observar por el ocular, sin interposición de la lupa, se advierten dos **semicírculos** con una bien marcada línea de separación. La relación de **iluminación** de ambos **semicírculos**, siendo igual la iluminación recibida

por ambos objetivos, depende solamente de la relación entre las aberturas de entrada. Interponiendo las cubas con la substancia en examen, se atenúa uno de los rayos de luz, por lo que, para igualarlos es menester cerrar parcialmente la pupila de entrada del otro, lo cual se consigue por un tambor micrométrico, que al girar disminuye o aumenta el cuadrado de entrada de la luz pero de manera que el centro de esa abertura cuadrada se conserva siempre en el eje óptico.

El funcionamiento de este aparato está basado en los siguientes hechos:

La absorción de la luz, producida por soluciones coloreadas, se debe en parte a la transformación de la energía luminosa en energía calorífica y a la dispersión probable de la luz provocada por las moléculas mismas. Las soluciones coloreadas, aunque no todas, cumplen con la ley de Lambert-Beer, representada en esta fórmula:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon c l}$$

donde: I_0 es la intensidad de la luz incidente.

I es la intensidad de la luz que ha atravesado la capa absorbente.

ϵ es una constante característica de la substancia.

c es la concentración de la solución.

l es la longitud de la capa absorbente.

Dividiendo la fórmula anterior por I_0 resulta:

$$\frac{I}{I_0} = 10^{-\epsilon c l}$$

Se llama transparencia " T " al cociente $\frac{I}{I_0}$ y extinción " E " al logaritmo negativo de " T "

$$\therefore T = \frac{I}{I_0} = 10^{-\epsilon c l} \quad \text{y} \quad E = -\log. T = \epsilon c l = k l$$

donde $k = \epsilon c$ es el coeficiente de extinción o módulo de extinción, que se obtiene dividiendo la extinción E por el espesor de la cuba l .

Ahora bien, si una solución coloreada cumple la ley de Lambert-Beer, para dos muestras de distinta concentración tendremos:

$$\frac{I_1}{I_0} = 10^{-\epsilon l c_1} \qquad \frac{I_2}{I_0} = 10^{-\epsilon l c_2}$$

Tomando los logaritmos queda:

$$-\log \frac{I_1}{I_0} = \epsilon l c_1 \qquad -\log \frac{I_2}{I_0} = \epsilon l c_2$$

$$\frac{c_1}{-\log \frac{I_1}{I_0}} = \frac{c_2}{-\log \frac{I_2}{I_0}} = \text{constante}$$

o sea
$$\frac{c_1}{E_1} = \frac{c_2}{E_2} = \text{constante}$$

lo cual puede escribirse así:

$$\frac{c_1}{k_1 l} = \frac{c_2}{k_2 l} \quad \therefore \quad \boxed{c_2 = c_1 \frac{k_2}{k_1}}$$

Para determinar la concentración de una solución coloreada, es suficiente dentro de los límites de validez de la ley de Lambert-Beer valorar una vez la extinción, de una solución de concentración c_1 , conocida, valiéndose de un filtro apropiado. Dividiendo esta extinción E por el espesor de la cuba usada, expresada en centímetros, se obtiene el coeficiente o módulo de extinción k_1 y luego se determina la concentración c_2 de una solución desconocida, en función del coeficiente de extinción k_2 que se encuentra para esta solución, por la fórmula anterior:

$$c_2 = c_1 \frac{k_2}{k_1}$$

Es en este caso más práctico llevar sobre papel milimetrado las extinciones E sobre uno de los ejes de ordenadas, en función de concentra-

ciones conocidas que se llevan sobre el otro eje. Se obtiene así una recta, en caso de cumplirse la ley de Lambert-Beer, pues la ecuación $E = \epsilon c l$ corresponde a una recta por ser una ecuación de primer grado.

Basta luego llevar sobre este sistema los valores de E , que se obtengan para soluciones desconocidas y tendremos los correspondientes valores de c .

Aún se puede trazar una curva con los valores de la transparencia T en función de las concentraciones c , pero indiscutiblemente es más cómodo y exacto el uso de la recta resultante de las extinciones E cuando la ley de Lambert-Beer se cumple rigurosamente.

Para determinar los valores de T o de E se procede así:

1º) Teniendo el aparato enfocado, se trata de igualar la intensidad luminosa en ambas mitades del campo, lo cual se consigue aproximando o alejando los vidrios esmerilados. No es necesario obtener una rigurosa igualdad de iluminación, pues intercambiando las cubas, se eliminará el error producido por esta causa.

2º) Debe procederse a la elección del filtro más apropiado para las observaciones, el cual es el que menor transparencia presenta. En el caso del furfurool con acetato de anilina es el $S50$, pero a pesar de ser el que mayor absorción presenta es inapropiado, pues si bien presenta una fuerte absorción para ciertas zonas del espectro permite el paso de otras, dando por resultado la observación de una mitad del campo de un color verde claro y la otra de un verde oscuro que impide la comparación de ambas partes del campo.



hemos escogido en nuestras experiencias como filtro más apropiado el S 47 que corresponde a 470 \AA .

3º) Elegido el filtro, debe buscarse también una cuba apropiada de modo que las lecturas de la transparencia caigan no por debajo de 5 ni por encima de 70. Se usarán igualmente para las determinaciones de furfurool, las cubas de 10 mmg. y de 2,5 mmg. según la concentración de cada caso.

4º) Se llenará entonces la cuba elegida con la solución coloreada, y se la colocará en uno de los porta-cubas, la derecha por ejemplo, y en el otro porta-cuba se coloca la otra cuba del mismo espesor llena de agua destilada pues en este caso siendo el vehículo de las reacciones un líquido incoloro como es el alcohol, puede reemplazarse por agua destilada.

El tambor micrométrico que corresponde a la cuba que contiene la solución coloreada se coloca en 100, es decir, se le da la abertura máxima.

Veremos ahora las dos mitades del campo desigualmente iluminadas; haciendo girar el otro tambor las intensidades de iluminación de ambas mitades del campo se igualarán. En este momento se hacen las lecturas, las cuales deben ser repetidas cuatro o cinco veces; luego se intercambian las cubas para efectuar otras cuatro o cinco lecturas calculándose el promedio de todas ellas.

Las lecturas de la transparencia T, se efectúan sobre las notaciones negras del tambor del aparato y van de 0 a 100 y la de las extinciones sobre las notaciones rojas que van de 3 a 0.

Las extinciones, pueden además, calcularse en función de los valores de

los valores de las transparencias, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$L_E = 2 - \log L_T$$

Siendo L_T la lectura de las transparencias, leídas en el aparato y L_E las correspondientes a las extinciones.

Conocido el valor de E , se lleva sobre la curva y se determina la concentración.

Hemos considerado en nuestras experiencias los distintos factores que pueden influir en las determinaciones del furfurool en las bebidas, teniendo principalmente en cuenta:

- a) Separación de las materias colorantes propias o agregadas a las bebidas examinadas.
- b) Naturaleza y concentración del ácido usado en la reacción cromática.
- c) Concentración y cantidad del ácido acético empleado.
- d) Influencia de la concentración de la anilina.
- e) Influencia de la acidez propia de la bebida.
- f) Influencia del grado alcohólico.
- g) Influencia de la temperatura a la cual se practica la reacción.
- h) Tiempo óptimo para la estabilidad de la coloración y para hacer las lecturas.
- i) Influencia de la luz.
- j) Especificidad de la reacción.
- k) Sensibilidad de la reacción.
- l) Dilución de soluciones muy concentradas.
- a) Separación de las materias colorantes.

La separación de las materias colorantes de las bebidas puede hacerse por destilación de éstas en la forma siguiente: 100 cms.³ de la muestra, a la que se agregan 10 o 15 cms.³ de agua, se destilan lentamente hasta recoger exactamente 100 cms.³ de destilado. En estas condiciones las materias extractivas fijas y colorantes quedan en el residuo final.

Pero, según Hewitt (31), dado que en la destilación así efectuada no se alcanza al punto de ebullición del furfurool (158° a 160°C) ya que no se puede llegar hasta sequedad por que se carbonizaría el residuo, resulta que el furfurool no es cuantitativamente arrastrado en una sola destilación.

Aconseja por tanto Hewitt, operar con un determinado volúmen de bebida y destilar rápidamente hasta casi la última gota, agregar 10 cms.³ de alcohol al residuo y volver a destilar hasta casi la última gota. Repitiendo las destilaciones 3 o 4 veces se comprueba que todo el furfurool sería arrastrado.

Con el objeto de verificar si todo el furfurool era arrastrado en una sola destilación, a pesar de no llegar a su punto de ebullición hemos efectuado las siguientes experiencias:

75 cms.³ de una solución de furfurool al 0,010 por mil, en alcohol al 50% en volúmen fueron destilados por la técnica corriente, es decir una sola vez y lentamente, recogiendo aproximadamente 75 cms.³ y completando exactamente con agua destilada el volúmen inicial de 75 cms.³

Por otra parte 50 cms.³ de la misma solución de furfurool al 0,010 por mil fueron destilados según el indicado método de Hewitt.

Luego a 10 cms.³ del primer destilado y a 10 cms.³ del destilado según Hewitt, se le agregaron 2 cms.³ de ácido acético glacial y 0,5 cm.³ de anilina incolora, procediendo a continuación a las lecturas fotométricas. Lo mismo, hemos efectuado como comprobación, con una solución de furfurool al 0,005 g. por mil y con un aguardiente de orujos (grappa) habiendo obtenido estos resultados:

Ensayo	Solución o bebida usada	Furfurool hallado en mgr. por mil cms. ³		Diferencia del destilado común con respecto al de Hewitt
		Dest. técnica común	Dest. técnica Hewitt	
I	0,010%	0,010	0,010	0
2	0,005%	0,0051	0,0050	0,0001
3	"Grappa"	0,0082	0,0084	-0,0002

Las diferencias obtenidas están dentro de los inevitables errores experimentales, por lo cual estas experiencias demuestran que el furfurool es cuantitativamente arrastrado en una sola destilación, a pesar de su elevado punto de ebullición. Es por ello que pierde su razón de ser el método Hewitt, método que presenta, además, el inconveniente debido a una posible formación de furfurool por sobrecalentamiento cuando se destila hasta casi sequedad.

Schidrowitz (32) critica vigorosamente el método de Hewitt y propone el siguiente método: a un volumen definido de bebida se agrega cantidad suficiente de solución saturada de acetato de plomo, luego se precipita el exceso de plomo con sulfato de potasio, filtra y opera sobre ese líquido filtrado.

Experiencias que hemos efectuado nosotros nos han demostrado que no siempre se produce una decoloración perfecta de los líquidos en examen, conservando a veces un tono amarillento, particularmente cuando contienen caramelo que no es completamente arrastrado por el acetato de plomo. Además, en muchos casos, la coloración producida al efectuar la reacción, tiene un matiz distinto al corriente, como si hubiese quedado alguna sustancia que interfiriese o dificultara una perfecta decoloración. Por estas razones opinamos que es inadecuado el método de Schidrowitz.

Finalmente, hemos efectuado varias determinaciones especiales sobre la bebida con su acidez natural y sobre la misma después de efectuada la neutralización con carbonato magnésico. Llevados los destilados al 50% en volumen, se determinó el furfurool siguiendo la técnica elegida.

Ensayos	Bebidas usadas	Furfurool hallado por litro alcohol absoluto	
		Destilado sin neutralizar	Destilado neutralizado
Nº 1	Grappa	0,0081	0,0082
" 2	Whisky	0,0110	0,0109
" 3	Cognac	0,0181	0,0183
" 4	Grappa	0,0253	0,0249

De estos resultados, cuyas diferencias están dentro de los errores experimentales, se deduce que no es necesario neutralizar los líquidos antes de la destilación, lo cual es lógico, pues, si se trata de bebidas destiladas naturales las sustancias madres del furfurool no se encuentran en los productos finales de elaboración.

b) Naturaleza y concentración del ácido usado en la reacción cromática

Distintos autores opinan diferentemente sobre el ácido a utilizar, pues así mientras unos emplean un ácido orgánico como el ácido acético, otros prefieren un ácido mineral como el ácido clorhídrico. El ácido nítrico está fuera de cuestión pues por su carácter de oxidante actúa rápidamente sobre el furfurool dando una reacción negativa o extremadamente transitoria.

Para decidir con respecto al uso conveniente del ácido acético o del ácido clorhídrico, hemos efectuado las siguientes reacciones:

<u>Reactivos empleados</u>	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4
Sol.furfurool al 0,005%	10 cm ³	10 cm ³	10 cm ³	10 cm ³
Anilina	2 cm ³	2 cm ³	0,5 cm ³	0,5 cm ³
Acido clorhidrico(I,I2)	0,5 cm ³	1 cm ³	—	—
Ac.acético gl'cial	—	—	1 cm ³	2 cm ³
Resultados obtenidos	Color.roja débil,poco estable	Color.roja débil,poco estable	Color.roja,más intensa, estable	Col.roja más intensa, estable

Los líquidos de todos los tubos, según se indica en el cuadro que antecede se colorean bien, pero la coloración en los tubos 3 y 4 es más estable y un poco más intensa.

En consecuencia puede deducirse que las coloraciones obtenidas con un ácido mineral como el ácido clorhídrico, son más transitorias que las obtenidas, con el ácido orgánico o sea el ácido acético.

Por otra parte, dado que los progresos experimentados por la industria moderna permiten disponer fácilmente de un ácido acético libre de fur-

furool, es recomendable el uso de este último porqué con él se obtiene una coloración más estable.

Es del caso agregar, que a pesar de ello y para mayor seguridad, el ácido acético debe ser ensayado con respecto a su contenido en furfurool antes de ser utilizado, no admitiéndose ni aún vestigios de éste en análisis rigurosos o de contralor.

c) Concentración y cantidad del ácido acético empleado.

Con el objeto de demostrar la influencia de la concentración del ácido acético, fué efectuada una primer serie de experiencias, según lo indica el cuadro siguiente:

Reactivos empleados	Tubo N° I	Tubo N° 2	Tubo N° 3	Tubo N° 4	Tubo N° 5
Sol. furfurool al 0,005%	10 cm. ³	10 cm. ³	10 cm. ³	10 cm. ³	10 cm. ³
Anilina	X got.	X got.	X got.	X got.	X got.
Acido acético glacial	0,5 cm. ³	1 cm. ³	1,5 cm. ³	2 cm. ³	3 cm. ³

En esta serie de experiencias, las coloraciones comienzan a desarrollarse enseguida, presentando una intensidad de coloración mayor al aumentar la acidez del medio a pesar de disminuir la cantidad del furfurool por la mayor dilución del líquido ensayado. Así, si en un instante determinado se observa la intensidad de coloración de las soluciones se puede comprobar que la del tubo N° I es menor que la del tubo N° 2, este presenta a su vez menos coloración que la del N° 3 y así sucesivamente.

Se nota, además, una mayor persistencia de la coloración al aumentar la acidez del medio y es así como:

a los 30 minutos las soluciones de todos los tubos están coloreadas
 " " 51 " la del primer tubo está decolorada

a los 78 minutos las del I^o, 2^o y 3^o tubo están decolorados

" " 98 " " " I^o, 2^o, 3^o y 4^o tubos están decolorados

" " 113 " " de todos los tubos están decolorados

Hemos confirmado estos hechos experimentalmente con el uso del fotómetro de Pulfrich, para lo cual medimos las transparencias de distintas coloraciones, obtenidas con concentraciones variables de furfurool.

En estas reacciones hemos usado una cantidad constante de anilina (X gotas) y una cantidad variable de ácido acético glacial, cuidando además de efectuar todas las lecturas, para una misma concentración de furfurool, a una misma temperatura. Se han obtenido así los valores indicados en los cuadros siguientes:

Cubá 10 mms. Filtro S 47

Tiempo en minutos	Furfurool al 0,001%			Furfurool al 0,005%					Furfurool al 0,015%	
	Acido acético			Acido acético					Acido acético	
	1 cm. ³	2 cm. ³	3 cm. ³	0,5 cm. ³	1 cm. ³	1,5 cm. ³	2 cm. ³	3 cm. ³	1 cm. ³	2 cm. ³
3	96,4	84,0	83,0	61,0	50,0	39,1	36,6	34,1	15,9	11,0
5	93,4	81,2	79,0	56,0	46,5	33,0	30,8	29,6	12,0	7,0
7½	86,6	80,5	69,0	56,0	46,0	33,0	30,7	27,5	12,0	5,5
10	83,5	80,0	68,9	56,0	46,3	33,0	30,7	25,5	12,1	5,2
12½	83,5	80,8	69,0	56,0	46,0	33,0	30,8	25,5	12,5	5,5
15	83,6	79,7	69,0	56,0	48,0	35,0	30,8	25,5	15,0	5,4
17½	83,5	80,8	69,6	57,0	50,0	37,1	30,7	25,5	17,3	5,5
20	86,6	80,5	69,4	59,1	52,5	39,7	32,0	26,0	18,3	7,0
22½	87,5	82,5	69,6	60,2	54,0	41,2	34,5	25,5	20,2	7,2
25	88,5	84,1	69,0	63,0	55,5	43,2	36,5	27,5	22,6	7,5
30	90,5	87,0	70,2	—	60,0	46,3	40,1	31,6	27,9	10,0
35	93,1	89,0	73,0	—	65,0	—	44,8	33,6	---	10,4
40	---	95,0	---	---	68,5	---	48,3	35,7	---	11,7

Cuba 2,5 mms. Filtro S 47

Tiempo en mi- nutos	Furfurol al 0,015%			Furfurol al 0,030%			Furfurol al 0,050%	
	ácido acético			Acido acético			Acido acético	
	1 cm. ³	2 cm. ³	3 cm. ³	1 cm. ³	2 cm. ³	3 cm. ³	1 cm. ³	2 cm. ³
3	57,0	51,0	45,8	32,5	25,0	23,0	15,0	11,3
5	55,0	45,0	37,2	26,1	20,0	16,5	11,0	8,3
7½	55,0	42,0	37,2	25,3	19,1	15,0	10,1	8,2
10	55,0	42,0	37,2	25,0	18,5	15,0	10,0	8,2
12½	55,0	42,2	36,3	25,0	18,6	15,0	10,0	8,5
15	56,0	42,0	36,2	25,5	19,0	15,0	10,1	9,0
17½	57,0	43,0	38,7	25,7	19,0	15,0	11,1	10,4
20	61,0	45,0	39,2	27,0	21,0	17,0	12,5	11,3
22½	64,1	47,5	40,5	28,4	22,1	18,0	14,0	12,2
25	68,1	50,0	41,1	30,0	24,5	18,8	15,5	13,9
27½	—	—	—	32,0	25,5	20,0	19,5	15,5
30	—	—	—	33,5	27,0	20,7	—	17,0

Con estos datos se construyeron los gráficos I y 2 que se acompañan y de cuyo examen se deduce:

1ª) que cuanto mayor es la cantidad de ácido acético agregada mayor es la intensidad de la coloración, puesto que a menor transparencia corresponde mayor intensidad de coloración.

2ª) que operando a la misma temperatura se observa con el incremento de la cantidad de ácido un muy leve aumento del período de máxima intensidad de coloración.

En base a estas dos conclusiones, adoptamos como más apropiada para la reacción la cantidad de 2 cms.³ de ácido acético glacial para 10 cms.³ del destilado alcohólico. Una mayor cantidad aumentaría aún la inten-

Cuba: 10 mm.
Filtro S 47.

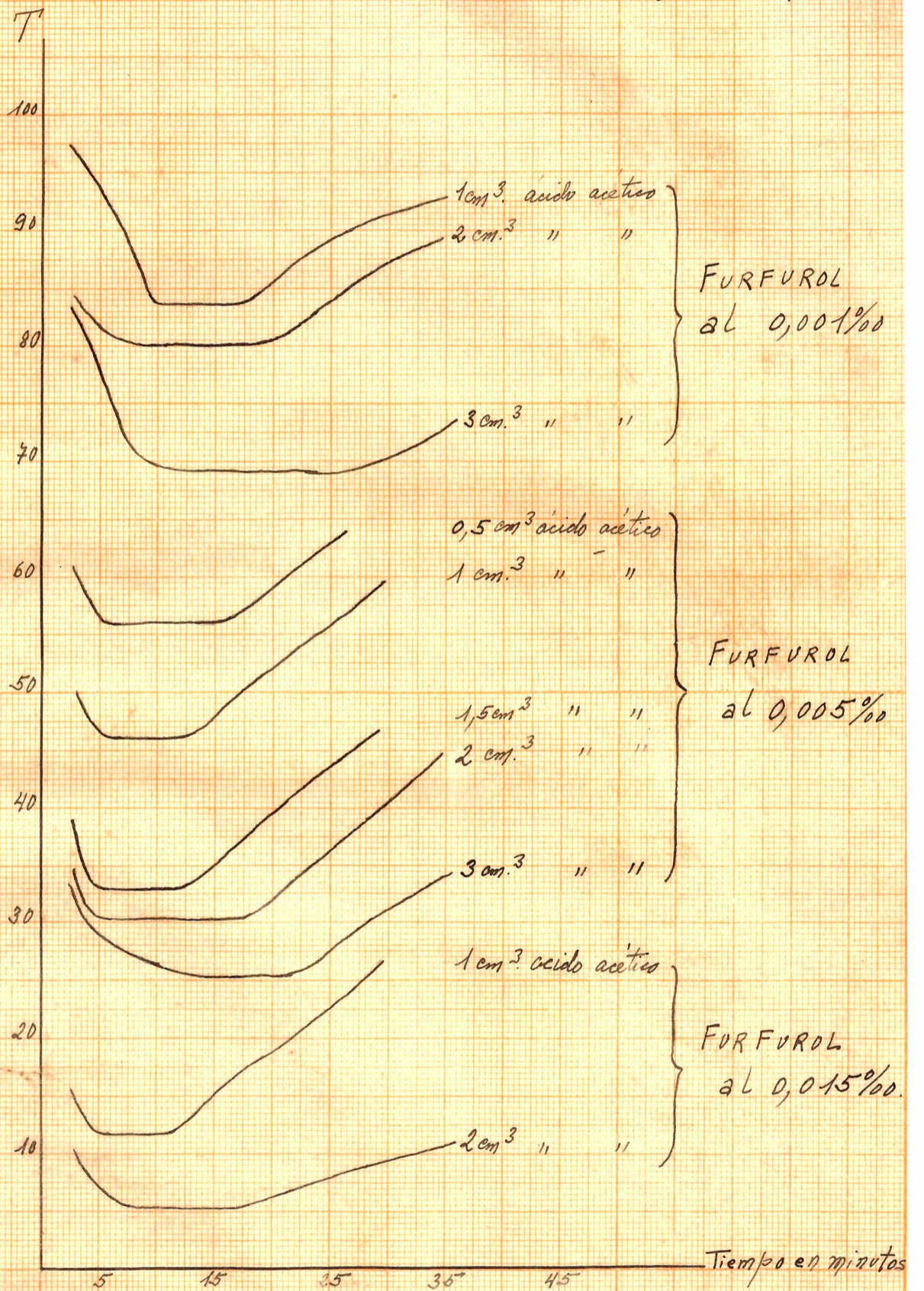


Gráfico 1

Cuba: 2,5 mms.
Filtro S 47.

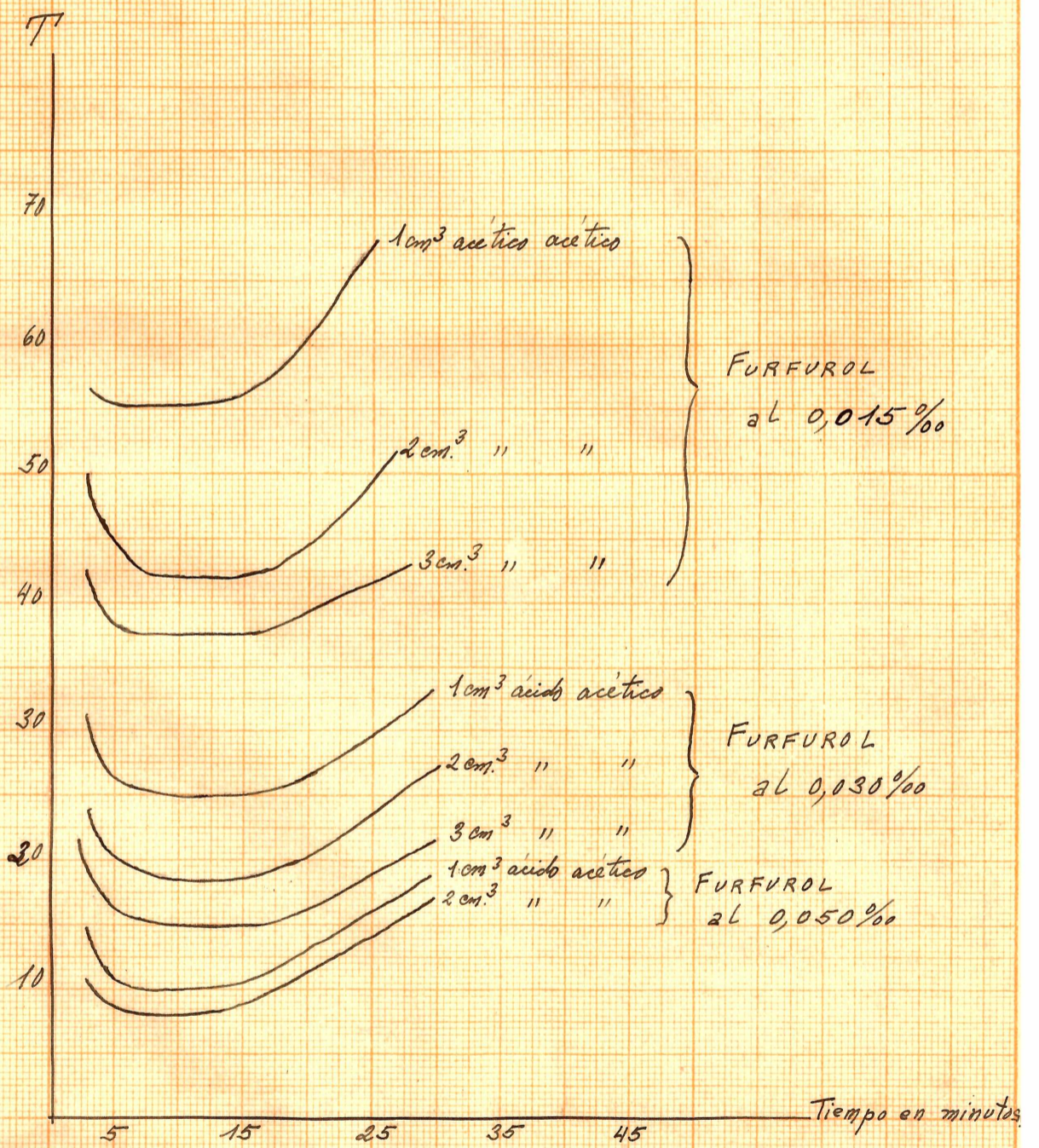


Gráfico 2

sidad de la coloración, pero puede ser un inconveniente en caso de bebidas con reducido contenido en furfurool, por la gran dilución que se efectúa al agregar esa mayor cantidad de ácido.

Resalta también, al observarse los gráficos, la necesidad de medir cuidadosamente la cantidad de ácido, puesto que los errores en más o en menos se traducirán por una mayor o menor intensidad de coloración.

d) Influencia de la concentración de la anilina.

Admitida la cantidad de 2 cms³ de ácido acético como la más apropiada, a base de nuestros ensayos para efectuar la reacción, se estudiaron también experimentalmente cuales eran las cantidades más apropiadas de anilina. Para ello se practicaron las siguientes experiencias:

Reactivos empleados	Tubo Nº 1	Tubo Nº 2	Tubo Nº 3	Tubo Nº 4	Tubo Nº 5
Furfurool al 0,005%	10 cm ³	10 cm ³	10 cm ³	10 cm ³	10 cm ³
Acido acético	2 cm ³	2 cm ³	2 cm ³	2 cm ³	2 cm ³
Anilina	0,25 cm ³	0,5 cm ³	1 cm ³	1,5 cm ³	2 cm ³
Resultados experimentales					
Aparición del color	Inmediatamente	Inmediatamente	Inmediatamente	Inmediatamente	Inmediatamente
Desaparición del color: tiempo en minutos	83	74	45	30	15

En estas experiencias que fueron efectuadas a una temperatura de 23°C se observa el fenómeno inverso al anterior, porque al aumentar la concentración de la anilina, permaneciendo constante la del ácido acético glacial, disminuye la intensidad de coloración. Así al observar en un instante determinado las intensidades de coloración, estas van de mayor a menor cuando la concentración en anilina va de menor a mayor.

Además debe notarse una mayor persistencia de la coloración al disminuir la concentración de la anilina.

Como en el caso anterior, hemos estudiado más detenidamente estas variaciones, empleando el fotómetro de Pulfrich, midiendo las transparencias en función del tiempo, de reacciones hechas con soluciones cuyo contenido en furfurool es variable, manteniendo constante la concentración en ácido acético (2 cms.³) y variando las de la anilina. Como anteriormente hemos cuidado que la temperatura fuera constante para cada serie de observaciones de un mismo tenor en furfurool.

En los cuadros adjuntos se transcriben los resultados de los ensayos efectuados.

Valores de T en función de t al variar la concentración en anilina

Cuba 10 mms. Filtro S 47

Tiempo en minu- tos	Furfurol al 0,001%				Furfurol al 0,005%				Furfurol al 0,015%			
	Anilina				Anilina				Anilina			
	0,25 cm. ³	0,50 cm. ³	1 cm. ³	2 cm. ³	0,25 cm. ³	0,50 cm. ³	1 cm. ³	2 cm. ³	0,25 cm. ³	0,50 cm. ³	1 cm. ³	2 cm. ³
3	85,2	83,9	76,2	85,9	520	446	40,7	72,2	18,7	8,7	10,2	12,5
5	78,1	76,4	81,0	87,9	397	382	44,7	74,3	11,0	7,2	13,3	13,5
7½	72,0	76,4	83,0	88,9	341	340	52,1	87,0	6,6	7,7	15,9	17,0
10	72,6	74,5	84,0	91,8	303	340	36,5	90,2	4,9	7,7	22,5	20,0
12½	72,2	74,5	85,9	93,0	307	350	62,1	95,5	4,0	8,7	—	21,1
15	72,0	74,5	88,0	96,1	303	355	66,5	—	4,0	9,2	29,7	22,0
17½	72,3	75,4	90,1	—	303	366	70,5	—	4,1	10,7	—	—
20	72,0	75,4	93,0	—	312	398	74,4	—	4,0	12,8	43,0	—
22½	72,0	78,3	—	—	320	422	—	—	4,0	—	—	—
25	72,0	80,5	—	—	335	456	—	—	4,0	16,7	—	—
27½	72,4	83,0	—	—	350	475	—	—	4,0	—	—	—
30	72,5	85,5	—	—	370	500	—	—	4,0	—	—	—
32½	73,0	—	—	—	385	525	—	—	4,0	—	—	—
35	73,2	—	—	—	405	552	—	—	4,5	—	—	—
40	74,6	—	—	—	—	—	—	—	4,9	—	—	—
45	—	—	—	—	—	—	—	—	5,1	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—	—	—	5,4	—	—	—

Valores de la transparencia T en función del tiempo t al variar la
concentración en anilina

Cuba 2,5 mms. Filtro S 47

Tiempo en minutos	Furfurol al 0,015%				Furfurol al 0,030%				Furfurol al 0,050%			
	Anilina en cm ³				Anilina en cm ³				Anilina en cm ³			
	0,25	0,5	I	2	0,25	0,5	I	2	0,25	0,5	I	2
3	54,6	53,0	51,5	70,4	35,8	26,4	32,2	45,3	19,5	11,7	13,7	34,3
5	39,1	45,0	52,5	78,1	26,4	20,5	26,4	52,8	12,7	8,8	15,6	48,8
7½	32,2	40,5	56,6	82,0	20,4	17,5	29,3	55,9	9,5	7,8	17,5	59,5
10	32,2	40,5	62,7	88,8	17,9	17,5	34,2	58,4	7,8	7,8	20,5	73,2
12½	32,2	40,5	70,5	92,8	16,0	17,5	38,1	65,0	6,7	7,8	24,4	—
15	32,2	40,5	—	—	16,0	17,5	41,0	78,8	5,4	7,8	28,3	—
17½	32,2	40,5	—	—	16,1	17,3	—	—	5,4	8,3	34,3	—
20	32,2	43,0	—	—	15,1	17,3	—	—	5,4	8,8	37,1	—
22½	32,2	48,0	—	—	15,1	21,5	—	—	5,4	9,2	—	—
25	32,2	50,9	—	—	15,1	23,4	—	—	5,4	10,7	—	—
27½	32,4	—	—	—	15,1	—	—	—	5,4	11,5	—	—
30	33,7	55,0	—	—	15,1	26,9	—	—	5,4	13,5	—	—
35	33,5	—	—	—	16,1	—	—	—	5,4	14,4	—	—
40	35,5	—	—	—	18,5	—	—	—	5,9	—	—	—
45	38,6	—	—	—	—	—	—	—	6,5	—	—	—

Con los resultados de este cuadro y del anterior se trazaron los gráficos 3 y 4 en los cuales se ha llevado la transparencia T en función del tiempo t expresado en minutos.

Observando estos gráficos se deduce:

I°) que al decrecer la concentración de anilina aumenta la intensidad de coloración.

Cuba: 10 mm.
Filtro: 5 47.

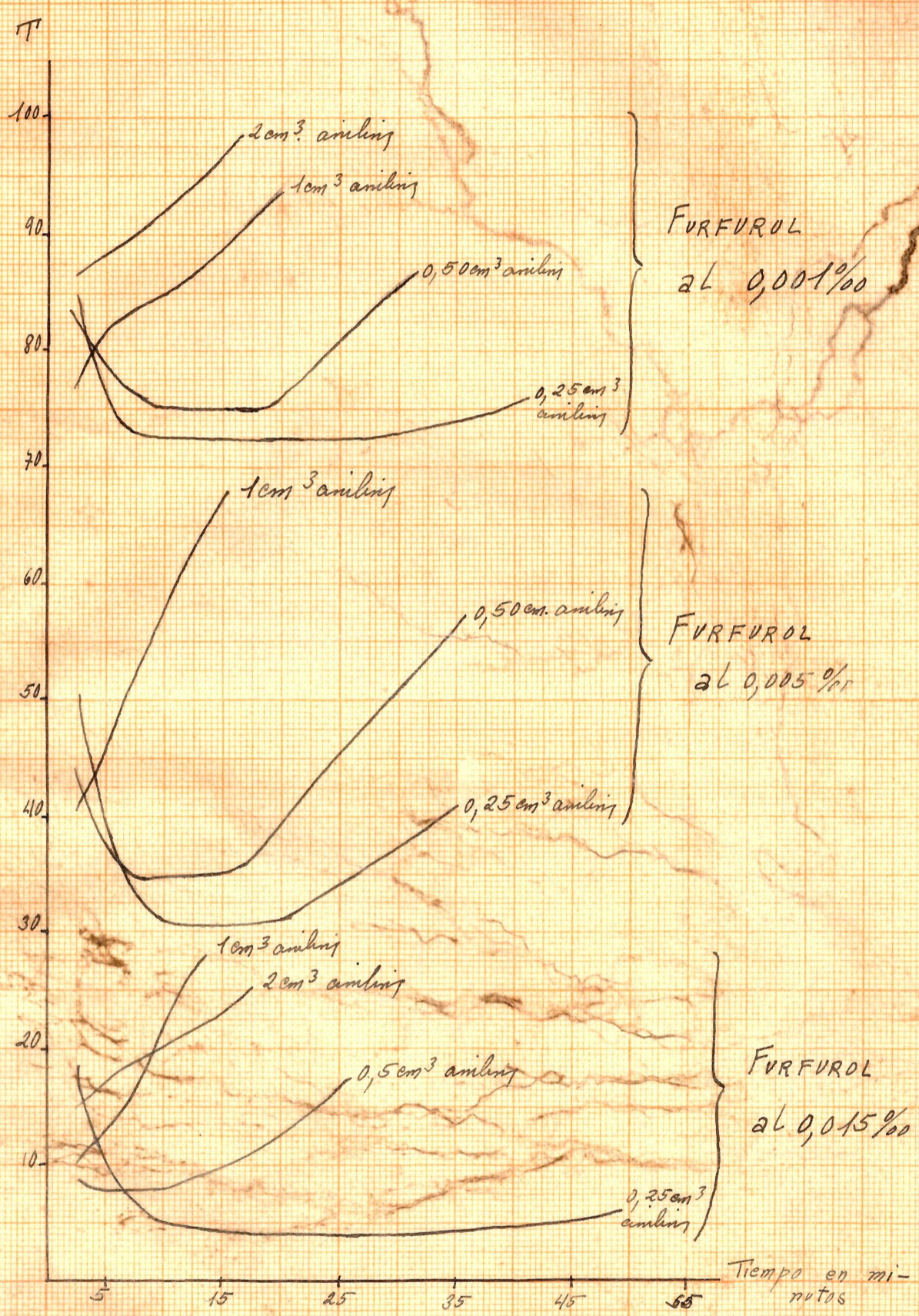


Gráfico 3

Cuba: 2,5 mm.

Filtro: S 47

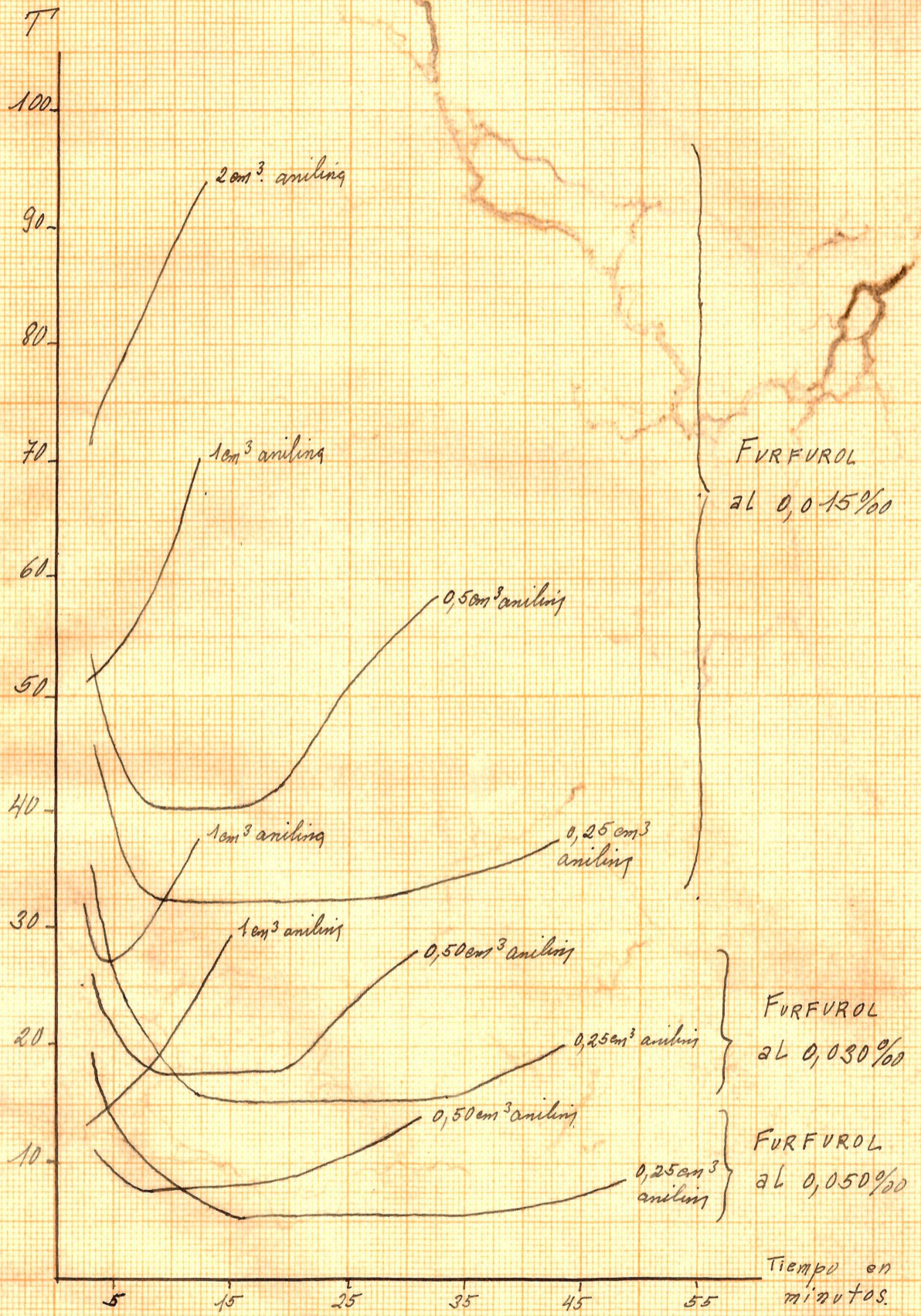


Gráfico 4

2º) que al decrecer la concentración de anilina aumenta enormemente el período de máxima intensidad de coloración.

Por lo tanto, consideramos conveniente adoptar la concentración de 0,25 cm³ de anilina para cada 10 cm³ de destilado, es decir una concentración de 2,5%, opinando al respecto que se obtiene así una coloración más intensa siendo mayor el período para hacer una lectura correcta.

e) Influencia de la acidez propia de las bebidas.

Considerando que la concentración del ácido resulta ser un factor de influencia tan marcada en estas reacciones, se estudió la conveniencia de neutralizar el destilado antes de practicar la reacción. Para esto se ha hecho una serie de experiencias paralelas: una de ellas con el destilado alcohólico de las bebidas, neutralizado y llevadas a un tenor de 50% de alcohol en volumen, y otras con el destilado también llevado a 50% de alcohol en volumen pero sin neutralizar.

Para efectuar la neutralización de los destilados procedimos así: a 20 cm³ del destilado primitivo se agregaron unas gotas de solución alcohólica de fenolftaleína y luego solución de hidróxido de sodio hasta completa neutralidad.

Con estos destilados se hicieron las experiencias utilizando 2 cm³ de ácido acético glacial y 0,25 cm³ de anilina, obteniéndose los resultados indicados en el cuadro siguiente:

Furfurol en gramos por 1000 cms.

Ensayos	Bebida examinada	Destilado neutralizado	Destilado sin neutralizar
Nº 1	Aguardiente	0,0254	0,0250
Nº 2	Whisky	0,0095	0,0096
Nº 3	Grappa	0,007	0,007
Nº 4	Caña	0,010	0,011
Nº 5	Grappa	0,029	0,029

La neutralización del destilado no tiene pues una influencia digna de consideración, ya que las diferencias anotadas en este cuadro son de escasa importancia y se encuentran dentro de lo admisible como errores experimentales.

Esto es explicable, por otra parte, si se admite que la acidez propia de los destilados de las bebidas alcohólicas es despreciable frente al 20% de ácido acético glacial que se agrega para efectuar las reacciones específicas de contralor y de evaluación.

f) Influencia del grado alcohólico.

Ya Hewitt (l.c.) había señalado la influencia de la concentración alcohólica y al respecto expresaba "que el agua parece desarrollar la coloración más rápidamente"; agregaba a continuación que a "un aumento del 20% en el agua de la solución corresponde un aumento aparente de la cantidad de furfurol, que alcanza alrededor del 10%. Estas afirmaciones sugieren que como norma para hacer una observación colorimétrica sea necesario que las graduaciones alcohólicas de las soluciones testigo y de la muestra sean aproximadas".

Hemos estudiado en consecuencia estas variaciones, valiéndonos de soluciones que contenían 0,005 por mil y 0,020 g. por mil de furfurol disueltos en alcohol de distintas graduaciones, según se indica en el cuadro

siguiente. Estas soluciones se trataron con 2 cms.³ de ácido acético glacial y 0,25 cm.³ de anilina; transcurridos 15 minutos se han hecho las lecturas, operando a 23°C

Cuba 10 mms. Filtro S 47

Furfurol al 0,005%	
Alcohol % en volúmen	Lectura de \bar{T}
90	45,5
70	34,0
60	29,6
55	28,5
50	25,7
45	30,1
40	31,6
30	32,6
10	56,3

Cuba 2,5 mm. Filtro S 47

Furfurol al 0,020%	
Alcohol % en volúmen	Lectura de \bar{T}
90	44,8
70	36,0
60	31,2
55	22,9
50	23,9
45	26,8
40	28,5
30	31,6
10	44,8

Sabido es que variando el grado alcohólico, varía también el matiz de la coloración producida por la reacción entre el furfurol y las sales de anilina, pasando de un tinte rojo violáceo cuando la solución es fuertemente alcohólica hasta un rojo anaranjado si la solución es acuosa. Al variar el matiz de la coloración, variarán entonces las lecturas de las transparencias debido a los cambios sufridos en la zona de absorción de la sustancia coloreada.

Se observa por consiguiente que los valores de la transparencia disminuyen al disminuir la concentración del alcohol, hasta un cierto límite comprendido alrededor del 50 al 55% de alcohol en volúmen, para luego ir aumentando nuevamente con el disminuir de la graduación alcohólica.

Resalta por tanto la necesidad de escoger una graduación alcohólica determinada para las evaluaciones de furfurol. Se ha escogido la gradua-

ción de 50% en volúmen, porque al mismo tiempo que se aproxima a la graduación alcohólica que produce menos transparencia, es decir, mayor intensidad de coloración, presenta la ventaja de ser la graduación alcohólica necesaria para determinar aldehidas y alcoholes superiores, lo cual evita hacer una nueva corrección del tenor alcohólico para estas determinaciones que siempre se practican simultáneamente con las del furfurool en las bebidas fermentadas y destiladas.

g) Influencia de la temperatura.

Tolman y Trescott (42) fueron los primeros que hicieron notar la absoluta necesidad de efectuar las determinaciones del furfurool con las sales de anilina, a una temperatura definida, la que conseguían conservando los tubos de reacción en un baño de agua a 15°C.

Este factor solo es considerado en los métodos propuestos por Woodman y por la A.O.A.C., no así en los demás métodos que no lo consideran, Woodman dice a este respecto que "para ensayos cuantitativos, el control de la temperatura es de gran importancia ya que afecta grandemente el rigor del color. A las temperaturas bajas escogidas (15°C) la reacción es quizá, menos delicada, pero es más realmente controlada".

Con el fin de decidir si la temperatura tiene influencia en la determinación del furfurool se tomó 10 cms.³ de una solución de furfurool al 0,005 g. por mil que se dejó en un baño a 10°C durante 10 minutos, con el fin de que tomase esa temperatura, luego se agregaron 2 cms.³ de ácido acético glacial y 0,25 cm.³ de anilina incolora. Después de 15 minutos se hizo la lectura de la transparencia T. Iguales experiencias se repitieron usando distintas temperaturas como se indica en el siguiente cuadro

Ensayos	Temperatura	Transparencia	Extinción	Concentración aparente de furfurool	Error (I)
Nº 1	10°C	34,3	0,46	0,0038	+24%
Nº 2	15°C	31,7	0,49	0,0042	-16%
Nº 3	18°C	25,1	0,60	0,0050	0
Nº 4	20°C	25,6	0,59	0,0050	0
Nº 5	25°C	26,8	0,57	0,0048	-4%

(I) Con curva trazada a 18°C.

Examinando los datos precedentes, como es notorio se observa una marcada discordancia en los resultados respectivos lo cual indica que debe escogerse una temperatura definida. Nosotros hemos elegido la temperatura de 18°C como la más apropiada para efectuar la reacción, por ser esta una temperatura fácil de conseguir y que por otra parte se aproxima a la temperatura media observada en los laboratorios.

Estas variaciones tienen su explicación porque a bajas temperaturas como las de 10 y 15°C la reacción es más lenta, ya que no se trata de una reacción entre iones y además porque no se ha llegado al máximo de intensidad de coloración, al término de los 15 minutos en que se han hecho las lecturas, mientras que a temperaturas más elevadas como la de 25°C ya ha comenzado a descomponerse la materia colorante inestable que se había formado durante la reacción dando por lo tanto resultados inferiores a los normales.

h) Tiempo óptimo para la estabilidad de la coloración y para efectuar las lecturas.

Se ha señalado ya que esta reacción requiere cierto tiempo para llegar al máximo de intensidad de coloración. Esta coloración máxima se conserva por cierto tiempo para comenzar luego a decrecer, aunque con

más lentitud que para su formación, según se comprueba en cualquiera de los gráficos anteriores.

Existe pues, un período de máxima intensidad de coloración durante la cual deben efectuarse las lecturas para poder obtener resultados exactos. Para determinar ese período hemos efectuado las experiencias que se detallan a continuación:

3
20 cms. de una solución de furfurool al 0,002 por mil en alcohol al 50% en volúmen fueron mantenidos durante 10 minutos en un baño de agua a 18°C, luego se agregaron 4 cms.³ de ácido acético glacial y 0,5³ de anilina, efectuándose las lecturas correspondientes de la transparencia en función del tiempo. Se tuvo la precaución de cambiar continuamente el contenido de las cubas para evitar en lo posible variaciones de la temperatura. Se repitió la experiencia con soluciones de furfurool al 0,001-0,004-0,005-0,010-0,015 y 0,040 por mil usándose la cuba de 10 mms. para las 4 primeras concentraciones y la cuba de 2,5 mms. para las 2 últimas.

Se obtuvieron estos resultados:

Valores de transparencia T. Temperatura 18°C. Filtro S 47

Tiempo en minutos	Furfurol en gramos por mil						
	0,001 (I)	0,002 (I)	0,004 (I)	0,005 (I)	0,010 (X)	0,015 (2)	0,040 (2)
3	83,5	80,0	70,0	62,0	44,1	62,8	30,6
5	78,3	70,0	57,1	48,0	25,1	46,2	17,8
7½	76,2	64,0	47,6	37,0	18,2	41,5	13,9
10	75,2	61,0	44,1	33,5	14,0	38,1	10,9
12½	73,2	58,1	40,0	29,3	11,2	35,4	10,6
15	72,5	55,0	36,6	28,8	10,0	32,4	8,9
17½	71,5	55,0	35,6	25,2	8,5	31,4	7,9
20	70,5	55,1	33,4	25,2	8,2	30,4	7,7
22½	70,1	55,0	32,5	25,2	7,1	30,4	7,4
25	70,1	55,0	32,6	25,2	7,1	30,4	7,4
27½	70,1	55,1	32,5	25,2	7,1	30,4	7,4
30	70,1	55,0	32,5	25,2	7,0	30,4	7,4
32½	70,1	55,0	32,5	25,1	7,1	30,5	7,4
35	70,1	55,2	32,4	25,2	7,1	30,4	7,4
37½	70,1	55,2	32,6	25,2	7,1	30,5	7,4
40	70,1	55,3	32,7	25,2	7,5	30,6	7,4
45	70,1	55,7	34,0	25,2	8,3	31,4	7,4
50	71,2	58,8	36,0	26,7	10,0	33,4	7,9
55	72,0	—	38,1	27,5	—	34,9	8,2
60	73,2	—	—	27,8	—	—	8,9

(I) Determinación hecha con cuba de 10 mms.

(2) " " " " " " 2,5 "

Con estos valores se construyeron los gráficos 5 y 6.

La máxima intensidad de coloración se alcanza alrededor de los 20 minutos comenzando a decrecer después de los 40 minutos de efectuada la reacción. Por lo tanto la observación de la coloración operando a 18°C de-

Cuba: 10 mmol.
Filtro: S 47
Temperatura: 18°C.

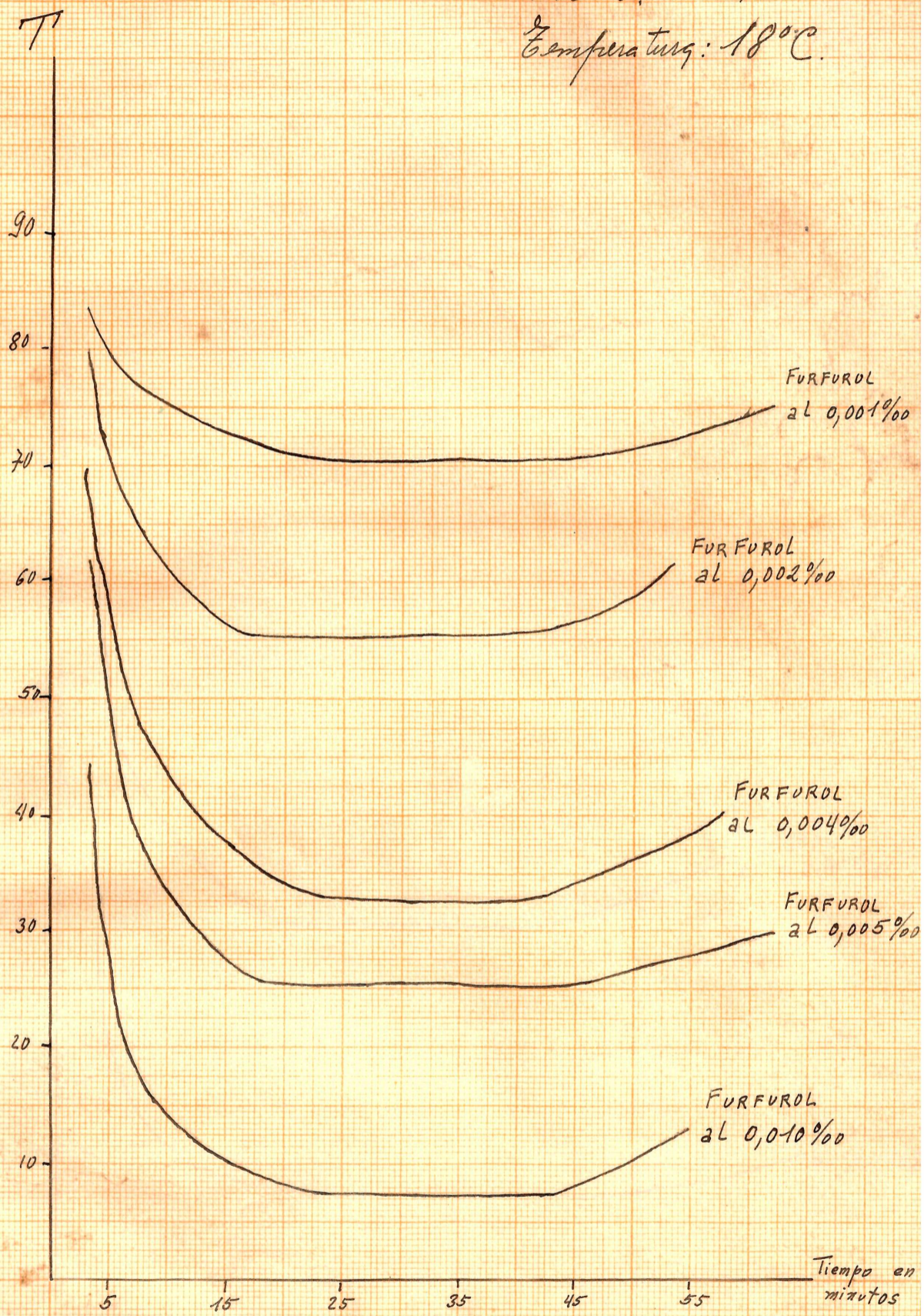


Gráfico 5

de hacerse después de los 25 minutos y antes de los 40 minutos de efectuada la reacción.

Fuera de este intervalo de tiempo se obtendrán resultados inferiores a la realidad.

i) Influencia de la luz.

Youngburg y Poucher (43) sostienen que la coloración de la reacción que estudiamos es muy sensible a la luz y que en consecuencia debe ser efectuada a la luz difusa o en la oscuridad.

Con el propósito de comprobar la influencia de este factor, hemos practicado reacciones con "whisky", "grappa" y "cognac" a la luz directa del sol, a la luz difusa del laboratorio y a la oscuridad, obteniéndose los siguientes resultados:

Cuba de 10 mms. Filtro S 47

Bebidas ensayadas	Luz directa del sol			Luz difusa			Oscuridad		
	Transparencia	Extinción	Furfurol(I)	Transparencia	Extinción	Furfurol(I)	Transparencia	Extinción	Furfurol(I)
Whisky	35,4	0,45	3,7	32,0	0,495	4,1	31,3	0,50	4,2
Grappa	80,6	0,09	0,5	72,1	0,14	0,9	72,2	0,14	0,9
Cognac	20,8	0,68	5,8	17,5	0,75	6,4	17,4	0,76	6,5

(I) Furfurol en miligramos por litro

Las reacciones realizadas a la luz directa del sol dan resultados bajos, mientras que operando a la luz difusa del laboratorio y a la oscuridad los resultados son concordantes.

Debe cuidarse, en consecuencia, de no efectuar las reacciones bajo la acción directa de los rayos solares, no siendo tampoco necesario operar en la oscuridad.

j) Especificidad de la reacción.

Está demostrado que esta reacción es específica para los furan-aldehidos y que no se produce ninguna coloración con el acetaldehido, ni con las otras aldehidas alifáticas ni con los cuerpos cetónicos.

Las sales de anilina dan origen, como hemos visto, a una coloración ro-

jo violácea que también se produce con el oximetilfurfurol aunque con menor intensidad. El oximetilfurfurol no existe en las bebidas destiladas, puesto que si bien se forma durante el proceso de la elaboración no es arrastrado durante la destilación por su escasa volatilidad, según lo indica Middendorp (l.c.)

El metilfurfurol que se encuentra en las bebidas fermentadas y destiladas solo da una muy débil coloración amarilla, que no interfiere de modo apreciable en las determinaciones del furfurol.

Es, en consecuencia, un reactivo suficiente específico para la caracterización y determinación del furfurol en el caso tratado.

k) Sensibilidad de la reacción.

Las experiencias que hemos efectuado con concentraciones variables de furfurol, desde 1 g. en 100 cms.³ hasta 1 g. en 100.000.000 cms.³ nos han permitido develar el furfurol hasta en concentraciones de 1 g. en 10.000.000 cms.³

Según Youngburg y Poucher (l.c.) pueden practicarse evaluaciones hasta concentraciones de 0,000.04 g. de furfurol en 100 cms.³, es decir, 1 g. de furfurol en 2.500.000 cms.³ de vehículo.

l) Dilución de soluciones muy concentradas.

Cuando la concentración en furfurol es superior al 0,011 por mil no puede utilizarse la cuba de 10 mms., puesto que la lectura de la transparencia cae por debajo de 5, zona inapropiada.

En estos casos se recurrirá a una cuba de menor espesor, siendo apropiada la de 2,5 mms.

Se presenta el interrogante de si, cuando una solución es muy concentrada puede diluirse después de efectuada la reacción.

Para decidir afirmativa o negativamente este hecho se han realizado estas experiencias: 10 cms.³ de dos soluciones de furfurol al 0,015 y al

0,020 por mil en alcohol al 50% en volúmen, exactamente medidas en tubos de ensayo fueron colocadas en un baño de agua a 18°C durante 10 minutos, luego se agregó a cada tubo 2 cm.³ de ácido acético glacial y 0,25 cm.³ de anilina, se mezcló bien, se colocó nuevamente en el baño a 18°C y después de 25 minutos se efectuaron las lecturas de la extinción con el fotómetro de Pulfrich utilizando el filtro S 47 y la cuba de 2,5 mms.

Dentro del período de máxima intensidad de coloración, es decir, antes de los 40 minutos de efectuada la reacción se separaron 5 cm.³ de las soluciones coloreadas y se llevaron a 10 cm.³ con una solución tal que no haga variar el grado alcohólico de la solución, ni la concentración de los reactivos (Anilina y ácido acético) ni la temperatura de la reacción. Tales condiciones se cumplen satisfactoriamente con una solución preparada de este modo:

Alcohol al 50% en volúmen.....100 cm.³
 Acido acético glacial.....20 "
 Anilina incolora.....2,5 "

Esta solución debe ser colocada en un tubo apropiado en el baño de 18°C y al lado de los tubos de reacción.

A partir de estas soluciones diluidas al medio, hemos efectuado las lecturas de las extinciones, usando el filtro S 47 y la cuba de 10 mms, obteniéndose los siguientes resultados:

Furfurol al	Sin diluir			Diluidos al $\frac{1}{2}$		
	Transparencia	Extinción	Furfurol hallado	Transparencia	Extinción	Furfurol hallado(I)
0,015%	30,4	0,51	0,015	13,1	0,88	0,0152
0,020%	22,5	0,64	0,0202	7,0	1,15	0,020

(I) Multiplicado por 2 porque esta diluida al $\frac{1}{2}$

En base a estos resultados podemos decir que no existe ningún inconveniente en diluir las soluciones coloreadas, siempre que se efectúen con la

solución indicada y con las precauciones también señaladas respecto de la temperatura y período de máxima intensidad de coloración.

Para aquellos casos en que no se dispone de un fotómetro de precisión y sea indispensable el uso de un colorímetro, tratamos de procurarnos una "solución tipo" estable a base de sales minerales con lo cual se evitaría la preparación de las "soluciones tipo" de furfurool con todos los inconvenientes que presenta, a lo que debe agregarse la escasa conservación de las soluciones de furfurool cuando el grado alcohólico no es muy elevado.

Ya hemos citado en capítulos anteriores el método de Vagezzi y Haller, autores que recomiendan emplear "solución tipo" de safranina, pero debe advertirse que esta solución además de no ser de una conservación muy satisfactoria, presenta el inconveniente de tenerse que llevar los líquidos destilados a un grado alcohólico del 40% en volumen en lugar del 50% que es más práctico, porque servirá también para emplear estas soluciones para las determinaciones de alcoholes superiores y de las aldehidas.

Nosotros hemos tratado por nuestra parte de obtener una "solución tipo" de coloración igual en intensidad y en matiz a la producida por una solución de furfurool, a partir del cloruro cobaltoso ($\text{Cl}_2\text{Co}, 6\text{H}_2\text{O}$) disuelto en ácido acético y agua en proporciones distintas haciendo variar el matiz y la intensidad de la coloración, modificando la cantidad de las distintas sustancias y por adición de solución de sulfocianuro de amonio en cantidades también variables.

Además hemos ensayado las sales de cerio, basándonos en la coloración roja anaranjada que produce el hidrato cérico al disolverse en los ácidos diluidos, sin que en ninguno de los dos casos hallamos podido llegar a resultados satisfactorios, aunque empleando las sales de cobalto las soluciones tienen matiz bastante aproximado y adecuado para constituir una "solución tipo" para esta clase de evaluaciones colorimétricas.

PROPOSICION DE ENSAYOS Y METODOS DE EVALUACION DE FURFUROL
A ADOPTARSE CON CARACTER OFICIAL EN LAS OFICINAS QUIMICAS
NACIONALES, PROVINCIALES Y MUNICIPALES

Cuando el fin perseguido es determinar cualitativamente si las bebidas alcohólicas contienen furfurol, procede investigarlo siempre sobre el destilado de la misma, pues si aquellas han sido sometidas al proceso de maduración en toneles de leños especiales (encina, roble, etc.) dan con las sales de anilina coloraciones amarillas que interfieren o modifican las reacciones de coloración.

Proponemos con el objeto indicado para la determinación cualitativa del furfurol en las bebidas fermentadas y alcohólicas el siguiente método y técnica operatoria:

Se mide en un baloncito aforado 100 cms.³ que se pasa después a un matraz pequeño lavando el balón dos o tres veces con algunos centímetros de agua destilada que luego se agregará al matraz. Se conecta un refrigerante al matraz y destila lentamente hasta recoger poco menos de 100 cms.³; se completa el destilado a 100 cms.³ exactamente con agua destilada.

A 10 cms.³ de este destilado se agregan 2 cms.³ de ácido acético glacial libre de furfurol y 0,25 cm.³ de anilina incolora, se mezcla bien y deja en reposo.

En el caso de presencia de furfurol, se obtendrá una coloración rojiza que se producirá enseguida o después de algunos minutos, según la cantidad de furfurol presente.

Para las determinaciones cuantitativas del furfurol en las bebidas fermentadas y alcohólicas, según lo visto anteriormente debe tenerse en

cuenta: a) privación de la materia colorante de las bebidas, b) concentración de los reactivos, c) grado alcohólico del destilado, d) temperatura en que se efectúa la reacción, e) tiempo en que se efectúa la lectura.

De acuerdo a los resultados examinados para estos distintos factores, proponemos la adopción de este método, usando siempre el fotómetro de Pulfrich, para la determinación del furfurool en las bebidas fermentadas y alcohólicas:

Se miden 100 cms.^3 de la bebida en un baloncito aforado, los que se vierten en un matraz apropiado; se lava el baloncito dos o tres veces con pocos centímetros de agua destilada que se agregarán al matraz. Se destila lentamente hasta recoger poco menos de los 100 cms.^3 y completa el volumen de 100 cms.^3 con agua destilada. Se determina luego el contenido alcohólico de este destilado a 15°C , ya sea con una balanza de **Morh-Westphal** o con un picnómetro a la temperatura indicada.

Conocido el contenido alcohólico por ciento en volumen se debe llevar a 50% de alcohol en volumen, por agregado de agua o de alcohol al 90% empleándose las tablas respectivas de alcoholimetría.

Se anota el volumen final obtenido al hacer la corrección del título alcohólico que es dado por las mismas tablas.

Se miden 10 cms.^3 de este destilado alcohólico corregido al 50% en un tubo apropiado y coloca en un baño de agua a 18°C . Al término de 10 minutos se agregan sucesivamente 2 cms.^3 de ácido acético glacial libre de furfurool y $0,25 \text{ cm.}^3$ de anilina incolora, mezcla perfectamente y mantiene nuevamente en el baño a 18°C . A los 25 minutos se llena la cuba de 10 mms. con esa solución coloreada y la otra cuba de 10 mms. con agua

destilada colocando a ambas en las correspondientes porta-cubas. Se efectúan tres o cuatro lecturas de las transparencias o de las extinciones, utilizando el filtro S 47; se intercambian las cubas y practican otras tres o cuatro lecturas tomándose el promedio de todas ellas.

Opinamos que es preferible, leer las transparencias y calcular las de las extinciones, como se ha explicado antes, con lo cual se obtiene dos cifras decimales para las extinciones, que la escala no dá en algunas zonas de la misma. Conocida la extinción se calcula la concentración del furfurool llevando la extinción sobre el gráfico 7 que nos dará la concentración en miligramos por ciento de furfurool.

En el caso de que la concentración en furfurool sea tal que la lectura fotométrica de las transparencias caiga por debajo de 5, puede elegirse uno de estos dos caminos:

1ª) Efectuar las lecturas de la transparencia utilizando la cuba de 2,5 mms. y el filtro S 47 y calcular por la recta del gráfico 8.

2ª) Diluir convenientemente la solución coloreada con la solución siguiente que debe estar también a 18°C:

Alcohol al 50% en volúmen.....	100 cms. ³
Acido acético glacial.....	20 "
Anilina incolora.....	2,5 "

y proceder con esta solución diluida, como anteriormente y usando la cuba de 10 mms.; no olvidando tener en cuenta para los cálculos las diluciones efectuadas.

En todos los casos las lecturas se han de efectuar nunca después de transcurridos los 40 minutos de practicada la reacción y cuidando tam-

Cuba: 10 mm.
Filtro 9 47
Temperatura: 18°C.

mg. de furfural %

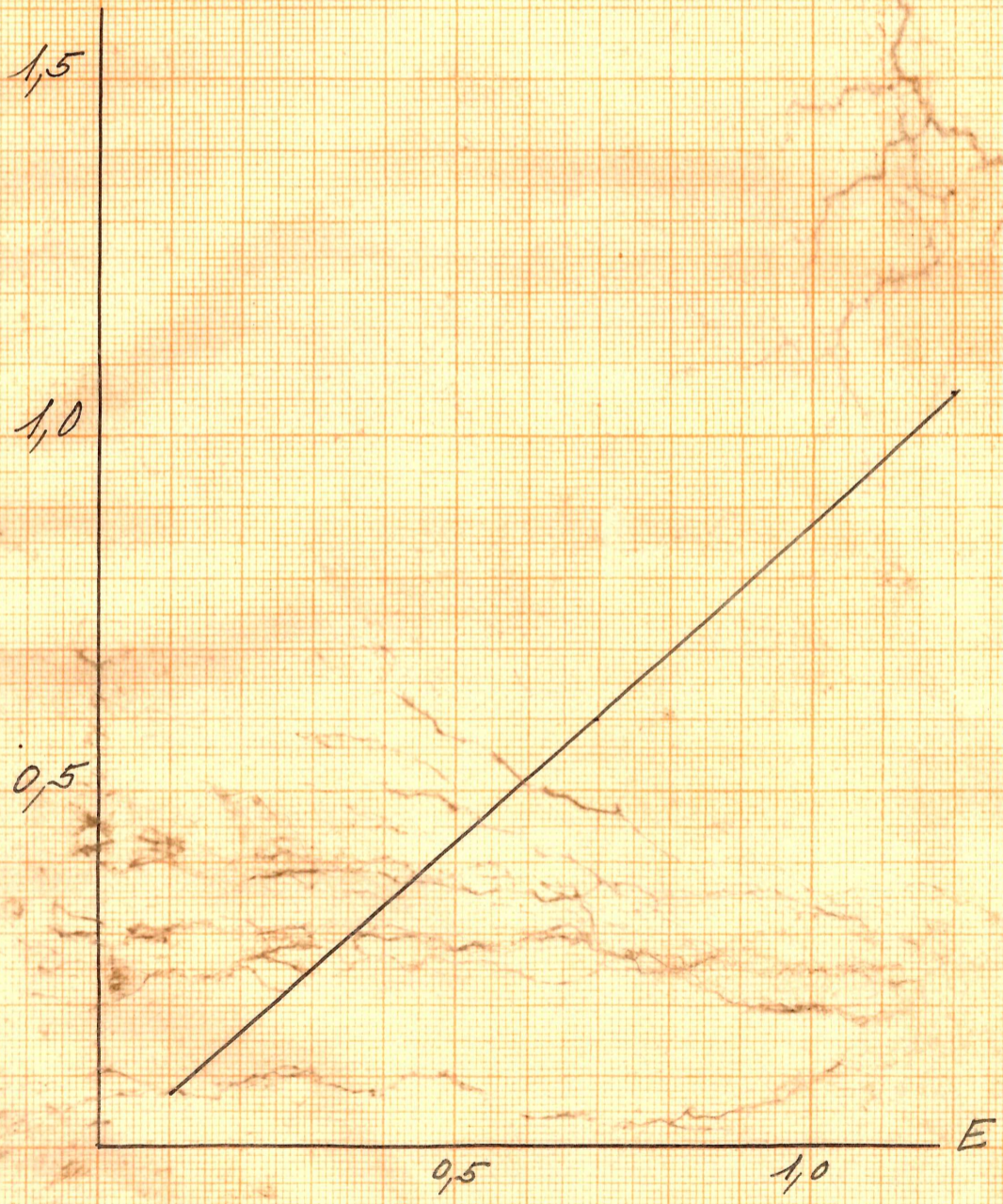


Gráfico 7

Cubq: 2,5 mms.
Filtro S 44
Temperatura 18°C.

mgs. de fufurool %

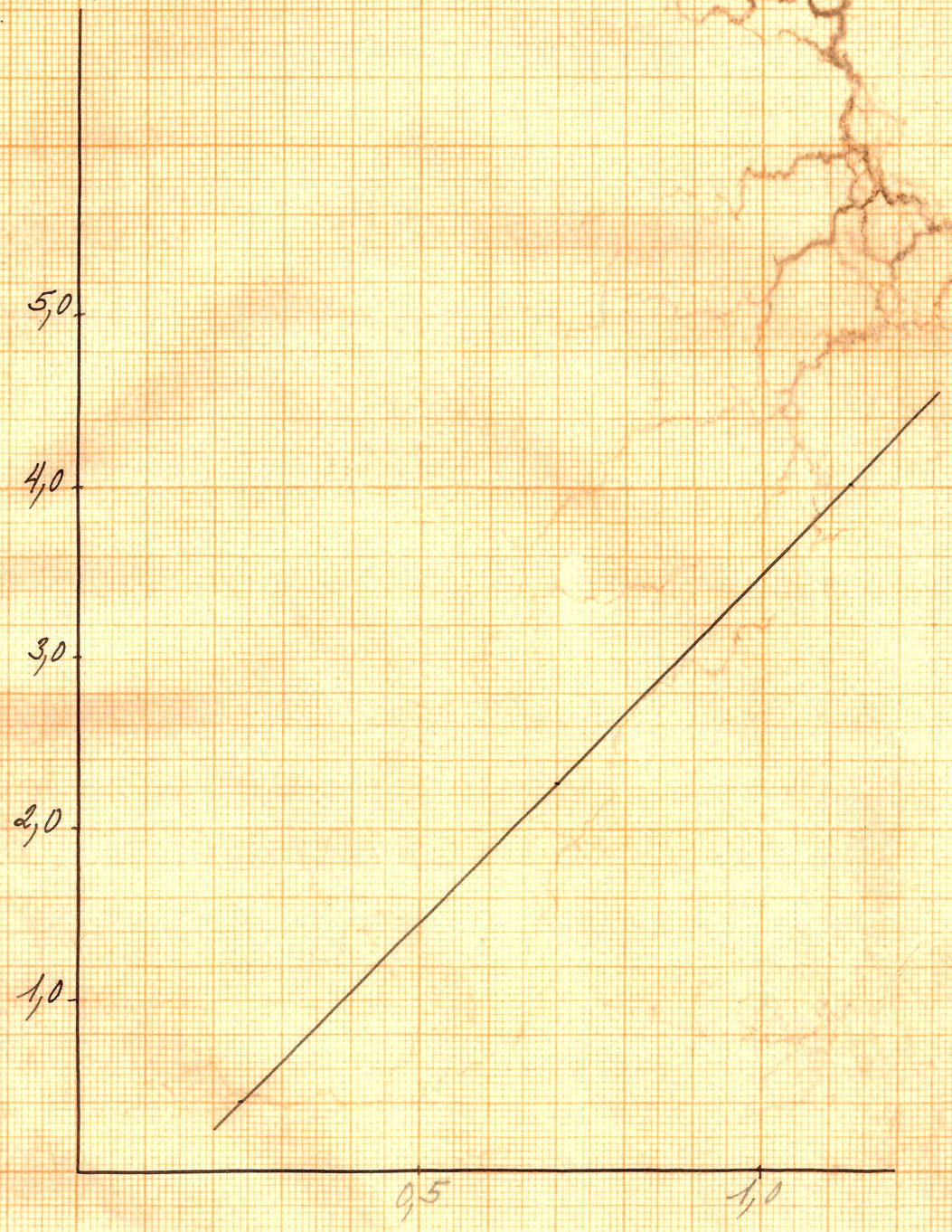


Gráfico 8

bien que los tubos de reacción no estén expuestos a la acción directa de la luz solar.

Conocido el tenor de furfurool, que las rectas expresan en miligramos por 100 cms.³, se calcula fácilmente el contenido en furfurool en miligramos por cien centímetros cúbicos de alcohol anhidro, de esta manera:

A partir del porcentaje de furfurool hallado para 100 cms.³ del líquido examinado, que supongamos, sea de 5 mgs., se calcula el contenido en furfurool de 100 cms.³ de la bebida primitiva.

Así, por ejemplo, si el destilado tuviese una riqueza del 43% de alcohol en volúmen, al llevarlo al 50% de alcohol en volúmen, se habrá obtenido partiendo de 100 cms.³, un volúmen final de 116,4 cms.³.

Luego en 100 cms.³ del destilado primitivo tendremos:

$$\frac{5 \times 116,4}{100} = 5,8 \text{ mgs. de furfurool}$$

Como los resultados se expresan en alcohol absoluto, tendremos que la cantidad de furfurool de la bebida, expresada por 100 cms.³ de alcohol absoluto será:

$$\frac{5,8 \times 100}{43} = 13,4 \text{ mgs.}$$

Usando el fotómetro de Pulfrich, se dispone entonces de un método rápido y seguro que presenta, entre otras ventajas, la de suprimir el uso de las "soluciones tipo", cuya aplicación ofrece los inconvenientes que se han mencionado en capítulos anteriores.

LEGISLACION BROMATOLOGICA COMPARADA , RELACIONADA CON LAS IMPU-
REZAS ALCOHOLICAS

En la revisión de las legislaciones sobre bebidas espirituosas efectuadas, ha podido establecerse que solamente de un modo general se indican límites de impurezas en las bebidas, si hemos de atenernos a las prescripciones oficiales vigentes en naciones europeas y americanas(44) Según puede comprobarse más adelante, la legislación Argentina es precisa y concluyente, porque además del coeficiente de impurezas totales, se fija independientemente el por ciento máximo tolerable de estas y también del furfurol que se considera importante desde el punto de vista industrial e higiénico.

No debe dejarse de tener en cuenta que a los valores dados solo debe darse un valor prudencial y relativo, puesto que, en determinadas bebidas genuinas, tales como "whisky", "cognac", "ginebra", "rhum", etc. el coeficiente de impurezas alcohólicas es sensiblemente superior al de las imitaciones, mezclas o "cortes" de aquellas con preparados artificiales, por lo cual sería conveniente la adopción, dentro de lo posible, de coeficientes mínimos de impurezas alcohólicas.

En cambio, se ha dado mayor valor a los alcoholes superiores y especialmente al coeficiente de impurezas, que como lo sostiene Scala (45) representa la suma de ácidos, aldehidos, furfurol, esterés y alcoholes superiores contenidos en 100 cm.³ de alcohol absoluto, calculados del alcohol en examen, y también conviene conocer el coeficiente de oxidación que es la suma acidez-aldehidos referida a 100 partes de las impurezas

totales.

Entre las distintas legislaciones se citarán:

Una antigua reglamentación de Rumania del II de Septiembre de 1895 (Artículo 18), ya mencionada, que fija límites para las impurezas del alcohol destinado a la preparación de aguardientes y otras bebidas alcohólicas, admitiéndose estas tolerancias:

Alcoholes superiores (alcohol amílico).....0,2 %

Aldehida acética.....0,02 %

Furfurol.....0,01 %

En España, rige, como se ha dicho en otro capítulo el Decreto-Ley sobre vinos y sus derivados dictado el 29 de Abril de 1926 por S.M. el Rey Alfonso XIII, que expresa textualmente:

"Art. 18 (Apartado 3º)

"En los alcoholes y aguardientes se tolerará un máximo total

"de impurezas normales de 1,5 por litro, según el método de

"Röse, entre las cuales el furfurol no deberá exceder de

"0,02 g. por litro".

En Suiza rige la Ordenanza del 23 de Febrero de 1926, reglamentando el comercio de materias alimenticias y objetos usuales, que establece:

"Art. 295:

"Los aguardientes pueden contener cobre, en la proporción de

"30 miligramos por litro como máximo y rastros de Zinc.

"Los aguardientes de frutas con pepitas pueden contener ácido

"do cianhídrico en la proporción máxima de 40 miligramos por

"litro.

"Los aguardientes de papa no deben contener más de 1,5 por

"mil en volúmen de impurezas alcohólicas (fusel) referidas
"al contenido de alcohol absoluto".

En nuestra República, regía el Decreto Nacional dictado por el Poder Ejecutivo el 18 de Octubre de 1929, concebido en estos términos:

"Modificación del artículo 50 de la Reglamentación General de Impuestos Internos:

"Art. 50

"Las impurezas contenidas en los alcoholes de consumo no podrán exceder de los siguientes porcentajes:

"Alcoholes directos producidos por la destilación de líquidos

"naturales que contengan azúcares directa o indirectamente fermentescibles (de frutas, orujos, de caña, de melaza, etc.)..... 0,5 %

"Alcoholes indirectos (de cereales, féculas, etc.) simples

"rastros o vestigios.

"Cognac, ron y ginebra///..... 0,5 %

"Otras bebidas de destilación directa (de frutas, etc) a graduación que no exceda de 55°..... 1 %

"En todos estos productos solo se tolerará el furfurol

"hasta el 0,04 por mil en alcohol anhidro cuando vayan

"a entrar al consumo directo y el 0,06 por mil cuando

"se destinen a ser manipulados antes del expendio".

Posteriormente estas prescripciones fueron modificadas por otro Decreto Nacional del Poder Ejecutivo, dictado el 12 de Noviembre de 1936, que expresa:

"Modificaciones del artículo 57, título III de la Regla-

"mentación General de Impuestos Internos:

"Art. 57

"Las impurezas contenidas en los alcoholes de consumo, no po-

"drán exceder de los siguientes porcentajes:

"Alcoholes directos producidos por la destilación de líqui-

"dos naturales, que contengan azúcares directa o indirectament

"te fermentescibles (de fruta, orujo, de caña, melaza, etc). 0,5 %

"Alcoholes indirectos (cereales, féculas, etc). vestigios o

"simples rastros.

"Cognac, ron, ginebra..... 0,5 %

"Otras bebidas de destilación (de frutas, etc.) a graduación

"que no exceda de 55°..... 1 %

"En todos estos casos se tolerará el furfurol hasta la pro-

"porción de 0,04 g. por mil en volumen de alcohol anhidro

"cuando vayan a entrar al consumo directo y la de 0,08 g.

"por mil de alcohol anhidro, en volumen, cuando se destinen a

"ser manipuladas antes del expendio".

Es oportuno hacer notar que en muchos países, como en Estados Unidos de Norteamérica, no se trata el problema de las bebidas alcohólicas por haber sido prohibido su consumo; y que en otros, como Francia, Italia, etc. solamente se ha reglamentado preferentemente la cuestión con criterio higiénico dándose límites de conjunto como sucede en el antiguo Reglamento de Italia del 3 de Agosto de 1890 (Artículo 148) y en el Decreto Real Italiano del 26 de Febrero del mismo año.

Nuestra opinión sobre ^{este} importante asunto de higiene pública es coincidente con el criterio adoptado por las autoridades técnicas nacionales porque es notorio que en la legislación vigente se ha contemplado la cuestión de fondo y se han proporcionado normas útiles a los industriales para impedir elaboraciones defectuosas y a la vez la circulación y consumo de bebidas nocivas o perjudiciales a la salud.

Es por ello conveniente destacar que merecen ser apoyadas las disposiciones previstas en Códigos y Reglamentos que establecen límites de impurezas y también de furfurol en las bebidas alcohólicas en general.

Se encontrarían en esta excelente situación tanto el Códex Alimentarius Sudamericano como el Reglamento Bromatológico de la Provincia de Buenos Aires (46) desde que solamente admiten para las bebidas alcohólicas naturales y artificiales un máximo de cinco (5) gramos de alcoholes superiores o un máximo de cuarenta (40) miligramos de furfurol también por litro, calculados en alcohol absoluto.

Si fuese posible coordinar a breve término las legislaciones de todos los países sobre tan importante materia, se podría llegar, sin duda, a satisfacer una legítima aspiración profesional, que se pone siempre en evidencia en las conferencias y congresos de bromatología y de higiene de la alimentación que desde hace tantas décadas se vienen realizando en Europa y en las Naciones Americanas.

CONCLUSIONES:

1º) La nocividad de las bebidas en general, juzgada por su contenido en furfurol es prácticamente nula.

2º) El furfurol es cuantitativamente arrastrado por una sola destilación de las bebidas, a pesar de su elevado punto de ebullición.

3º) Para la evaluación del furfurol con las sales de anilina, es conveniente el uso del ácido acético que produce una coloración más estable que la producida por el ácido clorhídrico.

4º) Con el incremento de las cantidades de ácido acético glacial agregado en la reacción anteriormente mencionada, se observa una mayor intensidad de coloración y un muy leve aumento del período de máxima intensidad de coloración, operando a igual temperatura.

5º) Al decrecer la cantidad de anilina, presente en la reacción entre el furfurol y el acetato de anilina, aumenta la intensidad de coloración y aumenta en forma muy considerable el período de máxima intensidad de coloración.

6º) La neutralización del destilado alcohólico de las bebidas, antes de efectuar la reacción cromática no ejerce una influencia ~~digna~~ de consideración.

7º) Es imprescindible ~~al~~ operar con destilados alcohólicos a una graduación determinada para la evaluación del furfurol.

8º) Para obtener datos correctos es necesario efectuar la reacción ~~coloreda~~ a una temperatura prefijada.

9º) De la mayor importancia es el proceder a las lecturas fotométricas dentro del período de máxima intensidad de coloración, que para las condiciones por nosotros escogidas y operando a 18°C está comprendido entre los 25 y 40 minutos.

10º) Debe cuidarse no efectuar las reacciones a la luz directa solar.

11º) Si fuese conveniente o necesario el proceder a la dilución de las soluciones concentradas en furfurol, después de efectuada la reacción, puede hacerse dentro del período de máxima intensidad de coloración con una solución tal que no haga variar el grado alcohólico, ni la concentración de los reactivos (anilina y ácido acético), ni la temperatura de la reacción. Tales condiciones se cumplen satisfactoriamente procediendo como se ha indicado en un capítulo anterior.

12º) El uso del fotómetro de Pulfrich nos permite disponer de un método rápido y seguro, que presenta, entre otras ventajas, la de suprimir el uso de las "soluciones tipo".

Carlos A. Antuñez

BIBLIOGRAFIA

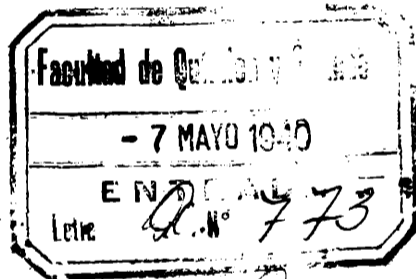
- 1) Anónimo.-Chem.Trade J.1926,T.78,pag.407-9 s/Chimie et Industrie
1926,T.16,pag.275
- 2) Yamada Masakazu.-Bulletin of the Chemical Society of Japan 1929,T.4
pag.31
- 3) Kling (A.).-Méthodes actuelles d'expertises employées au Laboratoire
Municipal de Paris 1922,T.4 pag.369
- 4) Lindet (M.).-Farine Tech.Ind.Schweiz.Chem.Ztg.1926,T.1926 s/C.A.
1927,T.21,pag.980
- 5) Haid.-Z.Garungsphysiol.,T.2,pag.107-9 s/ C.A. 1913,T,7,pag.1576
- 6) Lintner.-Garungschem.Lab.Kgb.Tech.Hosch.Munist s/ C.A.1911,T,5,
pag.755
- 7) Windisch.-Wochenfchrift für Brauerei 1898,T.5,pag.53
s/ " " " " 1913,T.24,pag.345
- 8) Abramov & Lhotsky.-Zpravy,Ustavu,Kvasnekv.Průmyslu v.Brne 1935-6,T.1
pag.185 s/ C.A.1939,T.33,pag.7035-9
- 9) Lintner. & Liebig.-Garungschem.Lab.Kgb.Tech.Hochsch.Munist,T.72,pag.
449-54 s/ C.A.1911,T.5,pag.3297
- 10) Lintner & Liebig.-Z.Physiol.Chem.,T.88,pag.109-21 s/ C.A.1916,T.10,
pag.1126
- 11) Hurd and Isenhour.-Journal of the American Chemical Society 1932,
T.54,pag.322
- 12) Middendorp.-Recueil des Travaux Chimiques des Pays Bas et de la
Belgique 1919,T.38,pag.1-71
- 13) Pasquero e Cappa.-Gazzeta Chimica Italiana 1911,T.2,pag.349

- 14) Crampton and Tolman.-Journal of the American Chemical Society
1908, T.30, pag.98
- 15) Coppetti et Covre.-Deuxième Congrès International pour la Repres-
sion de Fraudes.Paris 1909, pag.940
- 16) Vilar (J.).-Revista Farmacéutica,Buenos Aires 1926,T.68,pag.131
- 17) Dujardin-Beaumetz et Audigé.-Congrès International des Sciences
Med. Copenhague 1884,T.4,pag114
- 18) Whitney.-Science T.33,pag.587
- 19) Abel (J.).-Science T.33,pag.725
- 20) Joffroy et Serveaux.-Archives de Medicine Experimental et d'anato-
mie Pathologique.1896,pag.195
- 21) Lewin (L.).-Traité de Toxicologie 1903,pag.553
- 22) Mc Guigan (H.).-Journal of Pharmacology and Experimental Therapeu-
tic.1923,T.21,pag.65
- 23) Muer,Trickey and Browlee.-Met.Chem.Eng. 1922,T.27,pag.299-303
s/ C.A. 1922,T.16,pag.3894
- 24) Gander (G.).-Arch.f.exp.Path.u Phar.1932,T.168,pag.681-6 s/ Jour-
nal Physiol.et Pathologie gener.1933,pag.1166*
- 25) Ogier et Kohn Abrest.-Traité de Chimie Toxicologique.Paris 1924,
T.I,pag.416
- 26) Klisinius Joachimoglu.-Praktika (Akad.Athenon)1932,T.7,pag.39-47
s/ C.A.1934,T.28,pag.525
- 27) Fleury et Poirot.-J.Pharm.Chim.,T.26,pag.87-96;Bull.Soc.Chim.Biol.
1922,T.4,pag.252 s/C.A.1922.T.16,pag.4159 y Annales Chimie

Analytique 1922, pag. 302

- 28) Suminokura & Nakahra. - Trans. Totteri Soc. Agri. Sci. 1928, T. I, pag. 158-9
s/ C.A. 1929, T. 23, pag. 2908
- 29) Schiff. - B., T. 20, pag. 541 (1887) y A. 1887, T. 239, pag. 380 s/ Fulman
T. 4, pag. 349
- 30) Zincke & Mülhaussen. - Ber. Chem. Ges. 1905, T. 38, pag. 3824 s/ Journal of
Biological Chemistry 1924, T. 61, pag. 741
- 31) Hewitt. - J. Soc. Chem. Ind. 1902, T. 21, pag. 98
- 32) Schidrowitz. - Journal of the Society of Chemical Industry 1902, T. 21,
pag. 815
- 33) Woodman (A.G.). - Food Analysis. New York 1915, pag. 480
- 34) Denigés (G.). - Precis de Chimie Analytique, Paris 1920, pag. 890
- 35) Cox (H.E.). - Chemical Analysis of Food. Londres 1926, pag. 190
- 36) Allen (A.H.). - Commercial Organic Analysis. Londres, 5ª ed., T. I, pag.
258
- 37) A.O.A.C. - Methods of Analysis of the Association of Official Agri-
cultural Chemists. Washington 1935, 4ª ed., pag.
- 38) Vagezzi & Haller. - Mitt. Lebensm. Hyg. 1934, T. 25, pag. 39-47 s/ Snell. - Co-
lorimetric Methods of Analysis. New York 1937
- 39) Mohler & Benz. - Mitt. Lebensm. Hyg. 1934, T. 25, pag. 161-5 s/ Chimie et In-
dustrie 1934, T. 32, pag. 917
- 40) Villavecchia (V.). - Chimica Analitica Applicata. Milano 1937, pag. 371
- 41) Scott (W.). - Standard Methods of Chemical Analysis. New York 1927, 4ª
ed., pag. 1746

- 42) Tolman and Trescott.-Journal of the American Chemical Society
1906, T. 28, pag. 1619s/C.A. 1907, T. I, pag. 80
- 43) Youngburg and Poucher.-Journal Biological Chemistry.-1924, T. 61,
pag. 741
- 44) Cerioti (A.).-Guía Sintética de Análisis Bromatológicos. Capítulo
sobre Bebidas Alcohólicas. Buenos Aires 1930, pag. 26
- 45) Scala (A.).-Applicazioni di Física e Química all'Igiene. Torino
1926, pag. 670
- 46) Grau (C.A.).-Reglamento Bromatológico de la Provincia de Buenos
Aires, 2ª ed., La Plata 1937, T. I, pag. 296



La Plata 7 de Mayo de 1940

De acuerdo con lo establecido en el inciso e) del artículo 90 del Reglamento vigente designarse a los señores profesores Dos Antonio Cerioti, Vicente Colbraro, Alfredo Eusebio, Humberto Girombasta y Pedro G. Valerondo para que tomo la presidencia del primeramente citado constituyan la Comisión Especial que debiera estudiar y aprobar o no el presente trabajo de tesis, debiendo expedirse en un plazo no mayor de 20 (veinte) días a partir de la fecha de la comunicación como lo dispone el citado artículo.



EXPEDIENTE, letra..... núm..... año.....

/././Plata, Mayo 30 de 1940

La comisión examinadora que suscribe, después de realizar un minucioso estudio del trabajo de Tesis presentado por el ex-alumno del Doctorado en Química, Don Carlos M. Antonena, expresa su opinión más favorable por su aceptación.

Considera para ello que el autor, bien ~~compenetrado~~ del problema relativo a la existencia normal y a veces anormal del furfural en las bebidas alcohólicas, ha trabajado con una perseverancia digna de encomio para poder establecer normas analíticas convenientes, intentando de paso que éstas pudieran servir de base a un método oficial, cuya falta se pone en evidencia cada momento en los laboratorios bromatológicos.

Este trabajo de química analítica aplicada, tiene además la ventaja de que reúne en forma sistemática los antecedentes de la cuestión, una revisión de los métodos de valoración, las normas y reglamentos vigentes en muchos países, una amplia labor experimental y culmina en una bien documentada bibliografía sobre tan importante tema relacionado con la higiene alimenticia y con la bromatología general.

[Firma]
[Firma]
[Firma]

[Firma]
[Firma]



EXPEDIENTE, letra *A.* núm. *773* año *1940.*

Tesis: Carlos M. Antonena.

Señor Decano:

El trabajo de tesis efectuado por el ex-alumno Don Carlos M. Antonena, ha sido realizado en base a un plan concebido con buen criterio. Ha tocado todos los puntos vitales y además, los detalles que condicionan un trabajo de investigación. En consecuencia, opino que merece ser aceptado como requisito final de su carrera. La Plata, Mayo 22 de 1940.

M. Maternosti