

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

Indice de ésteres de bebidas destiladas.-

Normalización de métodos analíticos y aplicación a aguardientes de  
producción argentina.-

T E S I S

presentada para optar al grado de Doctor en Química, por  
JUAN ANIBAL BRAZZANOVICH.

año 1945.

Trabajo realizado en el Labo -  
ratorio de Química Analítica  
III Curso, de la Facultad de  
Química y Farmacia.-

---

P A D R I N O D E T E S I S :

Doctor Antonio Ceriotti

- - - - -

- A la memoria de mis padres.

- A mi esposa.

- A mi hija.-

Señor Decano

Señores Consejeros

Señores Profesores

Someto a vuestra consideración este trabajo de tesis realizado en el Laboratorio de Química Analítica (III, Curso) de la Facultad, en cumplimiento del último requisito reglamentario para optar al grado de Doctor en Química.

El Doctor Antonio Ceriotti me proporcionó el tema y orientó con eficacia. Por éllo dejo expresados mi reconocimiento y gratitud, que hago extensivos al Doctor Alfredo Sanguinetti cuyos consejos me permitieron continuar y terminar el trabajo al fallecer el Doctor Ceriotti.

Hago presente asimismo mi agradecimiento a los Señores Profesores y al Personal Docente Auxiliar de la Facultad.

T E M A   D E   T E S I S

Indice de ésteres de las bebidas destiladas.

Normalización de métodos analíticos y aplicación a aguardientes de producción argentina.--

Plan de desarrollo.-

- I.- Antecedentes nacionales y extranjeros.  
Origen de los ésteres en las bebidas alcohólicas.
- II.- Revisión de los métodos oficiales y convencionales vigentes en nuestro país y en naciones extranjeras.  
Estudio crítico general y especial.
- III.- Proposición de métodos a adoptarse por las Oficinas Químicas Nacionales, Provinciales y Municipales.
- IV.- Tabla de resultados experimentales y ensayos practicados sobre muestras elaboradas en establecimientos de jurisdicción nacional.
- V.- Conclusiones.
- VI.- Bibliografía.-

## ANTECEDENTES NACIONALES Y EXTRANJEROS

En el capítulo de las bebidas alcohólicas, o sea aquellos productos que contienen alcohol etílico como elemento dominante (2) y al que deben su principal sabor y acción, se incluyen las bebidas destiladas que son obtenidas como su nombre lo indica por destilación de bebidas fermentadas o de residuos de vinificación o de mostos de cereales o de jugos o zumos de frutas o caña de azúcar, etc. (mostos azucarados fermentados) (1). Tal es también el concepto con que se las identifica en el Reglamento Bromatológico de la Provincia de Buenos Aires (2) cuyo artículo 106 transcribimos a continuación: "Artículo 106- Se consideran bebidas de destilación directa o aguardientes naturales, las obtenidas por destilación de vinos sanos y genuinos, de jugos o zumos de frutas, de líquidos naturales, directa o indirectamente fermentescibles, sin agregado de azúcar, infusiones o cualquier otro producto, ni ninguna manipulación posterior a la destilación, salvo la hidratación. Los términos aguardiente, brandy, coñac y Pisco, sin agregado alguno, se reservarán para distinguir la bebida procedente de la destilación de vinos; las demás deberán designarse aguardiente o brandy de -----, según la primera materia de origen. Así: aguardiente de peras, de manzanas, etc."

Se trata pues de bebidas que originalmente deben contener además de agua y alcohol etílico, los productos volátiles de la fermentación alcohólica, cuyos productos varían cuali y cuantitativamente con numerosos factores pero esencialmente con el substracto sobre el que actúan las enzimas de las levaduras con acción específica. Es así como nos encontramos con varios tipos de bebidas destiladas: aguardiente de vino, de arujos, de cerezas, de duraznos, de manzanas, de caña de azúcar, de cereales, etc.

Dentro de los componentes comunes a este tipo de bebidas se encuentran los ésteres, productos de la esterificación de los ácidos: acético, butírico, fórmico, propiónico, enántico, caproico, caprílico, etc. con los alcoholes: etílico, propílico, butílico, isobutíli-

//co, amílico, etc., que constituyen compuestos de importancia dentro del llamado "coeficiente no-alcohol etílico", o impropriadamente llamado de "impurezas", que sirve de criterio (3) para la apreciación analítica de los alcoholes y aguardientes. Y decimos impropriadamente porque para el que busca producir alcohol etílico puro el término impurezas está perfectamente justificado, pero este término sería interpretado por el vulgo como un factor de depreciación en el caso de las bebidas destiladas, cuando en realidad constituyen sus componentes elementos normales esenciales de éstas y solo cuando algunos de ellos exceden límites legales se consideran nocivos a la salud.

Respecto a un límite a fijarse máximo o mínimo de contenido "no-alcohol etílico", ya en 1906 Mastbaun y Lesbonne (3) concluyeron que no es recomendable: el mínimo, por cuanto los falsificadores agregan ésteres y alcoholes superiores al alcohol industrial y llenan este requisito con facilidad y además, dice, porque hay bebidas destiladas auténticas que dan coeficientes inferiores al propuesto; tampoco conviene fijar el máximo por cuanto significaría aceptar que sus componentes son <sup>una de</sup> las causas de los males del alcoholismo y hoy sabemos que esta suposición es errónea. Así, por ejemplo, refiriéndose a la toxicidad de los ésteres con relación a la del alcohol etílico, afirmar Ogier-Kohn Abrest, que aquéllos tienen influencia mínima en el aumento de la toxicidad de éste.

En Inglaterra hay ausencia de standards legales (Parry (J.E.) The sale of food and drugs acts. 1875-1907. Volumen 2, página 35) sucediendo lo mismo en Estados Unidos de Norteamérica donde los límites fueron abandonados por considerarse que bebidas de alta calidad tienen elevado coeficiente no-alcohol etílico y también por entenderse que el efecto nocivo que pueden ejercer los componentes de tal coeficiente es prácticamente nulo en comparación al que produce el alcohol etílico (4). Sin embargo debe hacerse notar que en el Reglamento Bromatológico de la Provincia de Buenos Aires se fija para ciertas bebidas límite mínimo de contenido "no-alcohol etílico".-

Además del coeficiente global debe tenerse en cuenta, y esto si

//que es importante, la relación entre los diferentes componentes, puesto que existe proporcionalidad, por ejemplo, entre ésteres y alcoholes superiores: donde hay muchos ésteres debe haber también muchos alcoholes superiores (5). Así, se ha probado que en aguardientes bien elaborados de la región de Cognac la relación ésteres/alcoholes superiores, se aproxima a la unidad; y que cuando esta relación es mayor el aguardiente puede considerarse como de muy mala calidad, vale decir, se le han añadido ésteres para aumentar su aroma.

- - - - -



### ORIGEN DE LOS ESTERES. -

Debemos considerar aquí un interesantísimo trabajo de Kayser y Demolón (7) presentado al 7º Congreso Internacional de Química Aplicada realizado en 1909 en Londres - Sección Fermentación - autores que partiendo del concepto general que las levaduras son susceptibles de formar los ésteres que forman una categoría de elementos de "bouquet" más o menos característico, expresan como un hecho de la experiencia que ciertas especies típicas se distinguen por la producción de una cantidad relativamente grande de acetato de etilo, producción que se percibe fuertemente en el curso de la fermentación y que se atenúa en contacto del aire al punto de desaparecer al cabo de un cierto tiempo, y que representa cuantitativamente, en general, la casi totalidad de los ésteres volátiles.

Dice Crdonneau (8) con respecto a la naturaleza de los ésteres, en trabajo presentado a la sección Bromatología del Congreso ya mencionado, que los ésteres se hallan en los aguardientes de vino casi enteramente al estado de ésteres etílicos, aunque ha observado que en el aguardiente de orujo hay predominio de éster enántico sobre el acético, inversamente a lo que sucede en el aguardiente de vino en el que el éster acético representa un 92 %, existiendo 7 % de éster enántico y débiles cantidades de fórmico; dice asimismo que siendo el éster acético más volátil que el alcohol se encuentra siempre en los productos de cabeza de la destilación.

Kayser y Demolón han precisado el rol de la levadura en la formación y evolución de los ésteres dentro del mecanismo general de la fermentación. Han considerado primero la esterificación de orden puramente químico estimándola sin importancia dado que adquiere un valor ínfimo luego de un tiempo relativamente largo. En efecto, hacen el siguiente cálculo: examinan lo que daría la esterificación química de una mezcla de agua, alcohol etílico y ácido acético en las proporciones en que se encuentran habitualmente en los líquidos fermentados, o sean:

///

0,600 g de ácido acético, o 1/100 mol g.  
 1 mol g de alcohol etílico a 11°5  
 50 mol g de agua, por litro

y dicen: si designamos por "x" la fracción de ácido esterificado y adoptamos para la constante K el valor 4, que como Berthelot y Pean de St. Gilles lo han demostrado, conviene aún a las soluciones muy diluídas, se obtiene la ecuación:

$$4 = \frac{x(50 + x)}{(1/100 - x)(2 - x)}$$

donde "x" = 0,0037

límite que no se obtiene sino en un tiempo relativamente largo. Refiriéndose al proceso de acetificación en los vinos, expresa la Doctora Elena R.P. de Rhodius (9) que, según Gayon y Laborde (Manuels Pratiques d'Analyses Chimiques - París - año 1912 - páginas 288-296) es producida por un microorganismo aerobio cuya principal acción es transformar el alcohol en ácido acético, fenómeno que vá acompañado por una ligerá esterificación.

Por su parte Ruppín (Z. Untersuch. Lebensm. 57. páginas 243-244. año 1929) ha deducido de una consideración teórica de la ley de Gulberg y Waage que un brandy de vino puro debe contener menos de 100 mmg de ésteres en 100 ml de alcohol, dato que está muy por debajo de los resultados de numerosos análisis realizados por Buttner y Miermeister, lo que confirma la poca importancia de la esterificación de orden químico.

Kayser y Demolón han observado experimentalmente asimismo que la cantidad de ésteres es sensiblemente proporcional a la cantidad de ácido acético producido por la levadura y que en la fermentación en profundidad, para una superficie libre igual, la relación disminuye, ya que hay un aumento del tenor en ésteres. Presentan el siguiente cuadro de resultados, expresados en mililitros de NaOH 0,1n:

////

malto-peptona, más peptona, más fosfato potásico

	15 % de sacarosa		10 % de sacarosa			
			más ácido succínico	más ácido acético	en profundidad	
	1	2	3	4	5	6
acidez fija libre	25,50	26,70	25,20	48,35	22,0	25,80
acidez volátil libre	9,45	6,50	5,30	3,85	11,30	6,95
ésteres volátiles	2,75	1,90	1,45	1,10	1,10	3,00
<u>ácidos volátiles</u> ésteres volátiles	3,50	3,40	3,60	3,50	11,0	2,30

Esto, dicen, podría inducir a pensar en un fenómeno de hidrólisis en el líquido exterior o en la presencia de una diastasa sintetizante, pero observan que la adición de ácido acético no aumenta los ésteres volátiles. Por otra parte expresan que destilando levadura formada enseguida de la fermentación, con agua, se obtiene éster además de otros compuestos, pero al cabo de cierto tiempo ya no se obtiene más.

Estos hechos llevan a Kayser y Demolón a afirmar: "Los ésteres volátiles son productos de formación endógena, análogamente al ácido acético, que se difunden poco a poco al exterior"; "que es en el interior de la levadura, como sucede para el glicógeno, donde se produce el fenómeno de condensación entre el ácido acético y el alcohol" y que "una fuerte proporción de productos ácidos se encuentra esterificada en el interior de la célula".-

Según Ordonneau (ficha citada) para el caso particular de los aguardientes de vino, la cantidad de ésteres depende de varios factores entre los cuales merecen considerarse: cantidad de ácidos volátiles existentes en el vino -cantidad que varía con la naturaleza de las levaduras- y acidez total del vino, que favorece la esterificación.

Encontramos pues una cierta similitud entre los conceptos de Kayser y Demolón y de Ordonneau, ya que este autor destaca la notoria //

//influencia de la acidez volátil -al par que la total- mientras aquéllos establecen experimentalmente cierta proporcionalidad entre la producción de ácido acético y la producción de ésteres. Además se habla en los dos casos de naturaleza de la levadura.

A su vez Peynaud, en trabajo publicado en REVUE DE VITICULTURE, n° 86 página 209, al estudiar el fenómeno de la esterificación en los vinos atribuye gran importancia al pH del medio.

#### Factores que modifican la cantidad de ésteres.-

a) antes de la destilación. Durante el proceso de fermentación, la exposición al contacto del aire ha de producir sin duda alguna pérdida de ésteres, pérdida que se explicaría fácilmente no solo por la gran tensión de vapor de éstos (la tensión de vapor del acetato de etilo a la presión ordinaria es dos veces la del alcohol) sino también considerando la acción de arrastre producida por el anhídrido carbónico que se produce en cantidad considerable en aquél proceso. A este respecto han demostrado Kayser y Demolón (7) que "con una superficie libre insignificante y una fermentación poco activa, 81% del éster acético se encuentra arrastrado" por el anhídrido carbónico, por lo que consideraran necesario estimar cada burbuja de gas como saturada de vapor de éster. Ahora bien, teniendo entonces en cuenta el gran volumen de anhídrido carbónico producido durante la fermentación, es fácil concebir que el agotamiento sea importante y rápido.

También se debe pensar en que los ésteres pueden ser destruidos por la misma levadura y este concepto fué probado experimentalmente por Kayser y Demolón (7) que demostraron que producida la fermentación de un líquido azucarado, la adición de un antiséptico capaz de matar la levadura aumenta la proporción de ésteres volátiles que subsisten con el tiempo.

Los autores referidos presentan el siguiente cuadro de resultados:

Duración de la experiencia	5 meses		6 meses	
	testigo mmg	balón conteniendo fluoruros mmg	testigo mmg	balón conteniendo fluoruros mmg
ésteres volátiles por ciento de alcohol	126,7	228,8	148,0	211,2

//Los mismos autores han probado también la influencia de la clase de levadura con respecto a la cantidad de ésteres producidos, así como también la importancia de otro factor: el tipo de fermentación, sea ésta en profundidad o nó.-

Según Guillón (10) debe destacarse en la composición química de un crudo la influencia del cepaje y de las condiciones climáticas que han presidido la vegetación. Dicho autor termina expresando: ".... los tres factores que caracterizan un crudo: sol, clima y cepaje, pueden hallarse en otras regiones pero aisladamente. Luego, aún aplicando en otros lugares nuestros métodos de destilación y de conservación, los aguardientes de Cognac quedan inimitables y tenemos por la sola utilización de las fuerzas naturales un verdadero monopolio."

Refiriéndose al rum, E. Kayser (11) presenta un cuadro de resultados de análisis que muestra la variabilidad de la composición química según sea el método de fermentación, clase de levadura, temperatura, etc. En el cuadro se observa que los ésteres varían entre los valores 424 y 45, expresados en mmg por 100 ml de alcohol absoluto.

Tratándose de una bebida obtenida por destilación del vino, Ordonneau (8) hace depender su contenido en ésteres de los siguientes factores: 1) de la cantidad de ácidos volátiles en el vino, que varía con la naturaleza de las levaduras y con la mayor o menor abundancia de microorganismos de la vid en la época de la vendimia; 2) de la acidez total del vino, desde que ésta favorece la formación de ésteres. De este hecho deduce que los vinos obtenidos con uvas poco maduras, aquéllos que son destilados sobre los orujos que contienen bitartrato potásico, son ventajosos para la obtención de bebidas con mayor proporción de ésteres.

b) durante la destilación. Ya sabemos que la destilación, sea por aparatos intermitentes o continuos, debe efectuarse de manera que no pasen productos que por su sabor o aroma perjudiquen la calidad de la bebida resultante de aquella operación.

Ahora bien, la influencia del proceso de destilación en las proporciones de los distintos componentes de las bebidas destiladas en-

//tre los cuales se encuentran los ésteres, es destacada por numerosos autores que hablan de la importancia de las distintas técnicas destilatorias.

Así Ordonneau (8), refiriéndose a los aguardientes de vino, dice que entre otros factores es importante, en cuanto influye en la cantidad de ésteres de una bebida destilada, el tiempo que dura la destilación, y expresa, que una destilación lenta esterifica los ácidos volátiles, aumentando en consecuencia la cantidad de ésteres, vale decir, "fabrica" ésteres. Concluye dicho autor que en consecuencia la cantidad de ésteres es función del tiempo de calentamiento, de manera que una destilación lenta es ventajosa en este sentido, expresa que para el cognac verdadero un bajo tenor en ésteres significa corrientemente una mala destilación, mientras que un fuerte tenor, si no puede indicar una calidad excepcional desde que ciertos aguardientes de vinos averiados son cargados de ésteres, acompañado por buena degustación puede proporcionar datos precisos sobre el valor del producto examinado.

Por su parte Saglier(12) hace depender el tenor en ésteres de una bebida del grado de rectificación.

Girard(13) en trabajo presentado al 7º Congreso Internacional de Química Aplicada realizado en Londres en 1909, estudió también la influencia de la forma de destilar en la composición del destilado concluyendo que: cuando la separación de los productos volátiles resultantes de la fermentación de jugos azucarados se hace por destilación a presión ordinaria tiene notoria influencia en la variable composición del destilado la acción del aire y de la temperatura sobre los cuerpos en presencia; que cuando se emplea el vacío no se efectúa ninguna modificación, obteniéndose en el destilado toda la fineza del "bouquet" del jugo original.

Ratifica la primer parte de esta afirmación con la siguiente tabla de resultados:

///

	Composición de "alcohol" de vino	
	destilación a fuego directo	destilación en el vacío.-
ácidez	89,6	30,3
aldehidos	19,4	6,3
furfurol	1,7	trazas
<u>ésteres</u>	290,1	70,4
alcoholes superiores	300,0	300,0
coeficiente de impurezas	700,8	407,0

-resultados expresados en mgg por litro de alcohol a 100°.-

Vemos pues que diferencia tan grande existe en la proporción de ésteres, que es el componente que nos interesa, según varíe el tipo de destilación.

En trabajo publicado en el Boletín de la Sociedad Química del Perú afirma Carranza(14) que los ésteres preformados en los líquidos fermentados dispuestos para la destilación de aguardiente, sufren pérdidas apreciables al pasar al líquido destilado.

c) en el producto de la destilación. Aquí el factor más importante es el envejecimiento, y en este sentido es casi unánimemente aceptado que los ésteres aumentan con el envejecimiento de la bebida. Es claro que este concepto depende de la bebida a que se aplique como veremos más adelante, y además de la forma en que se efectúe el almacenamiento.

Dice Cox(16) que el "storage" tiene notoria influencia en la cantidad de ésteres para el brandy y que en el whisky -lo mismo afirma Alle (16)- aumentan en los primeros tres o cuatro años, manteniéndose luego constantes. Este último autor refiriéndose al brandy dice que con el tiempo podría esperarse alguna oxidación con formación de aldehidos y ácidos y que éstos podrían determinar alguna esterificación. Trae resultados de algunos análisis realizados en distintos tiempos, cuyos resultados transcribo:

///

///

mg de ésteres en 100 ml  
de alcohol absoluto.

---

-brandy de	2 años	136
-brandy de	16 años	81
-brandy de	35 años	133
whisky de	4 años	95
whisky nuevo		70
whisky de	4 años	77
whisky nuevo		48

Según expresan Prescott y Dunn (17), pero refiriéndose exclusivamente al rum, los primeros seis meses aumentan los ésteres, de manera que en un rum fresco los ésteres son mayores que los ácidos; a los dos años sin embargo los ésteres son menores que los ácidos.

Este fenómeno en el envejecimiento del rum se repite en el vodka, ya que Gratsianov y Ospora (Spirto Vodochnaya Prom. 17 n°8. páginas 9-11. año 1940) han encontrado que la acción del envejecimiento trae aparejada una pérdida apreciable de ésteres.

Con referencia a los cognacs, dice Guillón (10) que el alojamiento de éstos tiene su real importancia en la composición química.

Para terminar estos antecedentes respecto a la acción del envejecimiento en la composición de las bebidas destiladas, considero interesante transcribir algunos conceptos de la Tesis del Doctor Arduino (4) que dice: " el whisky recientemente destilado es un líquido incoloro y de sabor mas bien desagradable" y que " el desarrollo de los principios aromáticos que le confieren calidad se obtiene con el envejecimiento o maduración, para lo cual el producto es envasado en cascos de madera de roble, prefiriéndose en este sentido los ya usados y especialmente los que han contenido anteriormente vino de Jerez porque su madera está impregnada de productos secundarios, en especial ésteres de alcoholes superiores. Esta impregnación ocurre cuando el alcohol etílico se difunde a través de las paredes del tonel y

/////



///también seguramente. (E.Thorpe. Enciclopedia de Química Industrial. Tomo VI. página 721) cuando se vacía el envase, por oxidación lenta del alcohol remanente, con producción de ácidos, aldehidos y ésteres"

Según Bellet (18) la principal reacción que tiene lugar es una transformación de los ésteres de alcoholes superiores en ésteres etílicos con la consecuente liberación de aquéllos.

Esta acción del envejecimiento a que nos hemos referido se debe al envejecimiento natural, por lo que debemos dejar además expresa constancia de que la industria ha intentado, con éxito, reemplazar la acción de los factores considerados por procedimientos de envejecimiento rápido, valiéndose de distintos medios: exposición a los rayos actínicos, tratamiento por ozono, empleo de catalizadores, etc.

En resumen, de la lectura y estudio de estos antecedentes, se pueden obtener las siguientes conclusiones:

1°) que la esterificación de orden puramente químico entre el alcohol etílico y el ácido acético y otros ácidos es sin importancia, dado que adquiere un valor pequeño luego de un tiempo relativamente largo;

2°) que la esterificación entre los ácidos y los alcoholes se produce en el interior de la levadura siendo en consecuencia los ésteres productos de formación endógena, difundiendo posteriormente al exterior;

3°) que el cepaje y condiciones climatéricas que han presidido la vegetación, naturaleza de la levadura, substracto en la que ésta se ha desarrollado, acción de arrastre del anhídrido carbónico, pH del medio, temperatura, contacto con el aire y acción destructora de la misma levadura, son en conjunto factores que varían en uno u otro sentido la composición química de un líquido fermentado y en consecuencia la cantidad de ésteres;

4°) que, refiriéndonos ya al producto destilado, podemos considerar otros factores que modifican su composición: la técnica destilatoria empleada y el tiempo y forma del almacenamiento así como la mayor o menor rectificación a que fué sometido el producto.

/// Es natural que estos factores deben considerarse para un mismo tipo de bebida ya que es indudable que si consideramos las bebidas destiladas en general, si bien tienen la mayoría de sus componentes comunes, su cantidad variará esencialmente con la materia prima utilizada en su obtención.-

-----

MÉTODOS DE DETERMINACION DE ESTERES

<u>CLASIFICACION:</u>	<u>FISICOS:</u>	refractométrico capilarimétrico estalagmométrico
	<u>QUIMICOS:</u>	saponificación alcalina

## MÉTODOS FÍSICOS

### Refractométrico.-

El refractómetro ha sido empleado desde muy antiguo para determinaciones de diversas sustancias en forma cuantitativa, habiéndose observado que según la naturaleza y composición de aquéllas y su concentración en un determinado solvente variaba el índice de refracción de éste, con cierta proporcionalidad.

Ya en 1842, Deville midió los índices de refracción de soluciones acuosas de diversos alcoholes confirmando el concepto citado. A partir de entonces fué aumentando el valor de la aplicación de este método físico, que se extendió a numerosas determinaciones, creciendo paralelamente al perfeccionamiento de los aparatos (20).-

En 1905 A. Leach y A. Winton efectuaron determinaciones de alcohol metílico en bebidas destiladas por el método refractométrico observando en tal oportunidad que dicho alcohol decrece la refracción del etílico proporcionalmente a la cantidad presente (The Journal of The American Chemical Society. n° 27. página 964. año 1905).

La refractometría, como método de determinación de ésteres y alcoholes en soluciones acuosas, fué ensayada posteriormente por J. C. Manch (20) quién afirma que la cantidad de un alcohol o de un éster puede ser exactamente determinada midiendo el índice de refracción de la solución, pero que, cuando se trata de una mezcla, el procedimiento no tiene otro valor que el de facilitar el trabajo (orientación).

A su vez A. Leach y A. Winton (19) en su libro "Food inspection and analysis" página 86, consideran el refractómetro como un buen medio para determinar la pureza de varios productos, para identificar a otros y para estimar en ciertos casos el porcentaje de algunos constituyentes, haciendo especial mención de los aparatos de Abbe, Pulfrich, Amagat-Jean y del refractómetro de inmersión.

La lectura de estos antecedentes nos conducen a afirmar que para realizar determinaciones de valor el trabajo es largo y exige deter-

//minadas condiciones: aparato de excelente construcción, control permanente, temperatura adecuada, conocimiento del índice de refracción del solvente, tablas de valores respecto a la variación del mismo, etc.

#### Capilarimétrico.- (21) (22).-

Según el concepto moderno los fenómenos de capilaridad se deben a la acción de la resultante de dos fuerzas; la adhesión, que es una fuerza de atracción entre un sólido y un líquido, mucho más intensa que la que resultaría de la ley de Newton que se manifiesta cuando la distancia que los separa es muy pequeña; y la cohesión, del mismo tipo que la anterior pero que se manifiesta entre las partes de un mismo cuerpo (en nuestro caso, un líquido).

Estas fuerzas son las que producen la modificación de una superficie líquida en contacto con un sólido, fenómeno observado al colocar un líquido en un recipiente: cuando predomina la adhesión la resultante estará dirigida al sólido (superficie líquida con concavidad hacia arriba) y, en el caso inverso, lo estará hacia el líquido (superficie líquida con concavidad hacia abajo).-

Podemos considerar por otra parte a las paredes del recipiente como láminas paralelas bastante distantes una de otra de manera que la mayor parte de la superficie líquida es plana. Ahora bien, si reproducimos el fenómeno valiéndonos de dos láminas paralelas que introducimos en el líquido, a medida que vamos disminuyendo la distancia que las separa vamos a llegar a una distancia para la cual la superficie líquida no será plana en ninguno de sus puntos en cuyo caso veremos que esta superficie comprendida entre las láminas estará a nivel superior o inferior con respecto al del líquido exterior, según sea mayor la fuerza de adhesión o de cohesión.

Esto es exactamente lo que pasa en los capilares para los cuales la diferencia de nivel se debe al empuje que realiza a cada elemento de la columna líquida la tensión de la lámina superficial cuando no es plana; en estas condiciones se llega al equilibrio cuando el empuje hidrostático debido a la diferencia de nivel, es igual y de ///

//sentido contrario al que produce la tensión superficial.

De manera que si tenemos un líquido cualquiera (por ejemplo, agua) este líquido ascenderá en un capilar hasta una altura determinada que será siempre la misma para una misma temperatura.

Ahora bien, si nosotros disolvemos en ese líquido una sustancia capaz de modificar su tensión superficial, observaremos que la altura que mencionamos ha sido modificada aún más, veremos que la variación para un mismo soluto será proporcional a la concentración de la solución.

Para nuestro caso particular debemos especificar que los ésteres modifican la tensión superficial de una solución hidroalcohólica, pero debemos tener presente además que otros elementos que se encuentran en el producto de la destilación también la modifican, por ejemplo, los ácidos orgánicos, etc.

El aparato utilizado se llama capilarímetro para cuyo empleo hay que tener en cuenta varios factores: temperatura, presión enrase perfecto, errores en la lectura, etc. que hacen complicado el manejo, además de otros que pueden modificar la capilaridad: dilataciones, etc. incidiendo directamente sobre los resultados.

Además debemos considerar que en nuestro caso no se trata de soluciones puras sino por el contrario de líquidos complejos y cuya complejidad ha de hacer variar en sentido desconocido la capilaridad.

Por otra parte aún si aisláramos los ésteres del destilado, el resultado variaría con la diferente proporción de las varias especies químicas que componen esa función, dentro de las bebidas destiladas, vale decir, que habría que tomar en cuenta no solo la proporción sino también qué ésteres están presentes.

Se trata, pues, de un procedimiento exacto para soluciones de una sustancia, pero poco aplicable en nuestro caso.

#### Estalagmométrico. (21) (22).-

Si tenemos un tubo que en su parte terminal se hace sumamente delgado en él colocamos un líquido cualquiera, podemos observar la forma en que se produce la salida de las gotas: primero se observa una superficie líquida inferior cóncava, luego se hace plana y pos//

//teriormente convexa, aumentando paulatinamente la convexidad hasta que se produce un adelgazamiento y entonces la gota se separa.

Ahora bien, la posición de equilibrio se obtiene cuando la fuerza que mantiene la gota adherida, cuyo valor ha sido dado por la circunferencia de adelgazamiento  $2\pi R$  multiplicada por la tensión superficial  $t$ , es igual y de sentido contrario, lógicamente, al peso de la gota.

Cuando el peso de ésta es mayor se produce el desprendimiento.-

Con respecto al fenómeno descrito existe una ley, que aún cuando discutida, se acepta que tiene una aproximación suficiente, que dice: LEY DE TATE: "Para un mismo líquido y para una misma temperatura, el peso de las gotas que se forman en la extremidad de un tubo estrecho es proporcional al perímetro exterior del tubo".-

De aquí se desprende que si nosotros mantenemos constantes la temperatura y el perímetro del tubo, el peso de las gotas variará con la naturaleza del líquido, de manera que podemos considerar entonces que para una cantidad fija de líquido y en aquellas condiciones, el número de gotas estará relacionado proporcionalmente con su tensión superficial, de acuerdo con las consideraciones hechas anteriormente.

Entonces, si tenemos un líquido que da un cierto número de gotas y disolvemos en él una sustancia que haga variar su tensión superficial, variará el número de aquéllas.-

Nos podemos valer entonces de este fenómeno para medir la concentración de un soluto, midiendo la variación en la cantidad de gotas que experimenta una misma cantidad de solvente; se entiende que trabajando sobre el mismo aparato, es decir, manteniendo constante el diámetro del tubo; con una misma columna líquida (cantidad constante de líquido) y en igualdad de temperatura, ya que se ha observado, por ejemplo, que al variar ésta en  $10^{\circ} \text{C}$  el peso de una gota de agua varía de 0,05 g a 0,0612 g.-

Los aparatos empleados ó estalagmómetros son numerosos y muy variados, siendo uno de los más conocidos el de Traube.

Como los ésteres hacen variar la tensión superficial de una solu,

//ción hidroalcohólica, este procedimiento podría adoptarse para medir su concentración en un líquido pero ya dijimos que en nuestro caso -destilado de una bebida- hay otras sustancias que también ejercen la misma acción, por lo cual sería indispensable aislar estos componentes de la mezcla, además de las imprescindibles medidas de precaución que exige el procedimiento en sí, circunstancias que complicarían aún más la determinación.

Debemos tener en cuenta además que la variación de la tensión superficial tendrá diferentes valores según sea la naturaleza del éster y nosotros sabemos que en nuestro caso tenemos una mezcla de ésteres, de manera que al variar los componentes variarán los resultados aún para una misma cantidad total de ésteres.

Por otra parte se hace sumamente dificultoso y molesto contar 100 o más gotas. Esto exige gran atención y a la menor duda repetición del trabajo.

Todo ello hace que este método, si bien exacto, resulte poco práctico.

#### CONCLUSIONES:

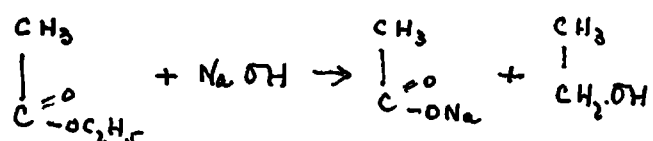
De lo expresado con respecto a la aplicación de los métodos físicos para la determinación de ésteres en bebidas destiladas se desprende que tanto el procedimiento refractométrico como el capilarimétrico o el estalagmométrico son sumamente exactos, particularidad ésta que los haría aplicables con exclusión absoluta de todo otro procedimiento; pero desde un punto de vista práctico con vista a su adopción en oficinas de análisis donde es necesario además de la exactitud, la practicidad, rapidez y sencillez, como elementos indispensables, resultan carentes de valor porque implican casi siempre operaciones muy delicadas, porque exigen condiciones físicas estrictas (temperatura, presión, etc.), porque constituyen a menudo tareas largas y molestas, como asimismo multiplicidad de operaciones que pueden implicar pérdidas durante el manipuleo a que debe someterse el producto ensayado sino se adoptan grandes precauciones.

- - - - -



MÉTODOS QUÍMICOS

Los métodos químicos de determinación de ésteres se basan todos en el proceso de saponificación por un álcali, cuya reacción se interpreta en la siguiente forma:



Se trata pues de una reacción típicamente bimolecular irreversible (23):-

A los efectos de obtener conclusiones para proponer un procedimiento práctico para la evaluación de ésteres en bebidas destiladas, y habiendo encontrado notorias diferencias en los valores que dan los distintos procedimientos hallados, aplicados a una misma muestra, hemos ido estudiando cada uno de los factores que inciden en uno y otro sentido en el proceso de saponificación afectando los resultados.

Debemos dejar constancia que siempre hemos realizado nuestros ensayos con aguardiente de orujos (grappa) obtenido en lugares cercanos a esta Ciudad.

- - - - -

### Cantidad de muestra.-

La casi totalidad de los métodos hallados en la búsqueda bibliográfica para determinar ésteres en bebidas destiladas, preconizan operar sobre 100 ml o 50 ml de muestra, ya sea directamente o sobre el producto obtenido por destilación de aquélla.

Indudablemente es una cuestión previa a resolver, cuestión que está directamente ligada a la cantidad de ésteres que contiene la bebida o su producto de destilación, por cuanto si se trata de un líquido con elevado porcentaje podríamos hacer fáciles determinaciones con cantidades menores que con un alcohol rectificado, con pequeña o nula cantidad de impurezas, para cuyo caso deberíamos disponer de una cantidad de muestra muy superior a las citadas.

Las determinaciones fueron realizadas trabajando con un balón Pirrex de 500 ml de capacidad, unido a un refrigerante a bolas utilizando un tapón de corcho. Se medían cantidades variables de muestra directa, se neutralizaba su acidez empleando fenolftaleína en solución alcohólica al 1 % como indicador, e hidróxido de sodio 0,1n como solución alcalina, llevándose a rosado persistente; se adicionaban luego unos fragmentos de piedra pómez y entonces, previo agregado de un exceso de solución alcalina que se fué variando para mantener la misma alcalinidad, se llevó a ebullición suave durante una hora por calentamiento directo a la llama, se dejó enfriar y se tituló por retorno con ácido sulfúrico 0,1n llevando a rosado persistente como en la neutralización de acidez.

Los resultados experimentales figuran en las tablas n° 1 y n° 2.

De ellos se desprende que trabajando sobre una misma muestra, los porcentajes de ésteres hallados van aumentando gradualmente según operemos con 25 50 o 100 ml de muestra, aún cuando debemos destacar que esta diferencia es menor si comparamos los resultados obtenidos trabajando con 50 o 100 ml. La diferencia entre los resultados se hace más notable con la grappa de la tabla n° 2 al comparar los valores encontrados trabajando con 25, y (50 y 100) ml y coincidentemente con el caso anterior vemos que esta diferencia es mucho menor al trabajar con 50 y 100 ml de muestra.

// A qué factores debemos atribuir el aumento observado?

En este sentido considero que debemos descartar un probable gasto de álcali producido por la oxidación y resinificación de los aldehídos existentes en la muestra, ya que si bien podemos admitir ese gasto de álcali que nos daría errores en más, esos errores serían proporcionales en los tres casos contemplados; esta deducción ha sido obtenida de un trabajo de Barbet (24), autor que expresa en 1906 que el gasto de álcali debido a los aldehídos durante la determinación de ésteres por saponificación depende de la naturaleza del álcali empleado, de la concentración de la solución alcalina -y por ende de la alcalinidad actuante- y de la temperatura de calentamiento, elementos estos todos que no han variado en nuestros ensayos. Por otra parte es evidente que esta oxidación o resinificación de los aldehídos no puede tener la importancia de la oxidación del alcohol, dado que se trata de líquidos netamente alcohólicos.

Para responder a la pregunta que nos formuláramos admitamos entonces una probable oxidación del alcohol producida por el calentamiento en contacto con el oxígeno del aire y favorecida indudablemente por la simultánea neutralización del ácido formado, por la presencia del álcali en exceso existente en el líquido. Esta oxidación del alcohol con formación de ácido -aceptada ya por Duchemin y Dourlen quienes constataron que el "alcohol fuerte" era susceptible de oxidarse lentamente al contacto del aire con formación de ácido acético (Bulletin de L'Association des Chimistes de Sucrierie n° 22 página 1293; n° 23, página 109) será lógicamente mayor cuanto mayor sea la cantidad de muestra empleada; variará con la irregularidad del calentamiento, con ebulliciones bruscas producidas por exceso de temperatura -recalentamientos- que resulta difícil de graduar cuando se emplea un volumen pequeño de líquido; también tendrá su importante influencia el grado alcohólico de la muestra. No obstante, este factor no lo tomamos en cuenta por el hecho de trabajar sobre una muestra única, que en consecuencia tiene el mismo grado alcohólico, aunque se nota esta influencia comparando los resultados de las tablas n° 1 y 2 donde el grado alcohólico varía de 52° a 58°.-

///

// Pensemos entonces en las dificultades que se nos presentaron para mantener en ebullición suave a 25 ml de bebida que, no obstante la vigilancia constante ejercida durante una hora es bastante irregular ya que, con facilidad manifiesta, se hace tumultuosa, en cuyo caso es necesario disminuir la llama o aún retirar el mechero con lo que cesa la ebullición: estos hechos hacen pues una operación muy irregular. Por el contrario resulta mucho más práctico mantener en ebullición suave a 50 o 100 ml de muestra, ya que este estado se vá alcanzando lenta y progresivamente obteniéndose de esta manera una operación casi completamente regular, aunque naturalmente, exige un tiempo algo mayor. Debemos destacar asimismo que 100 ml es una cantidad que consideramos demasiado alta para emplear en una sola determinación por lo que solo estimamos necesario emplearla cuando se trate de bebidas con bajo contenido en ésteres.

Por otra parte, observando todas las técnicas halladas para la determinación de ésteres por saponificación, vemos que las que aconsejan usar 50 ml de muestra - o de su producto de destilación las que consideran indispensable operar sobre el destilado - son mucho más numerosas que las que preconizan el empleo de 100 ml, existiendo únicamente dos procedimientos que usan 150 ml.

Quiero dejar constancia como aspecto aparte de la cuestión que estamos tratando que se trabajó con balón Pyrex y lo hemos adoptado teniendo en cuenta que este vidrio es poco atacable por las soluciones alcalinas, y de acuerdo a las conclusiones de los trabajos realizados por Campbell (25) de que la naturaleza del vidrio afecta los resultados como consecuencia lógica del ataque experimentado por tales soluciones.

## CONCLUSIÓN PRÁCTICA PARCIAL N° 1.-

## Considerando:

que al operar con 25, 50 y 100 ml de una misma muestra y un exceso de solución alcalina del 20 % en todos los casos, hemos observado que los valores de ésteres aumentan, aunque no en forma proporcional;

que la diferencia entre dichos valores es menor cuando se comparan los obtenidos al efectuar los ensayos con 50 y 100 ml;

que al emplear 25 ml se presentan dificultades de orden práctico (operación irregular);

que 100 ml es un volumen de muestra que consideramos demasiado grande para una determinación, salvo el caso de una bebida con bajo contenido de ésteres; y,

que la gran mayoría de los métodos aconseja emplear 50 ml;

FIJAMOS en 50 ml la cantidad de muestra necesaria para efectuar la saponificación, cantidad que podrá aumentarse a 100 ml cuando el contenido de ésteres sea muy pequeño.-

-----

## RESULTADOS ANALITICOS

Tabla n° 1

Grado alcohólico: 52°

Cantidad de muestra	NaOH 0,1n agregado en exceso	NaOH 0,1n gastado	NaOH 0,1n calculado para 1 litro
ml	ml	ml	ml
25	5	0,45	18,0
25	5	0,35	14,0
25	5	0,45	18,0
25	5	0,35	14,0
25	5	0,45	18,0
25	5	0,40	16,0
25	5	0,45	18,0
25	5	0,35	14,0
25	5	0,40	16,0
25	5	0,35	14,0
			<u>valor medio: 16,00</u>
50	10	0,95	19,0
50	10	0,95	19,0
50	10	0,95	19,0
50	10	0,80	16,0
50	10	0,95	19,0
50	10	0,85	17,0
50	10	0,95	19,0
50	10	0,95	19,0
50	10	0,95	19,0
50	10	0,80	16,0
			<u>valor medio: 18,20</u>
100	20	1,90	19,0
100	20	2,00	20,0
100	20	2,00	20,0
100	20	1,90	19,0
100	20	1,85	18,5
100	20	1,90	19,0
100	20	2,10	21,0
100	20	2,10	21,0
100	20	2,00	20,0
100	20	2,10	21,0
			<u>valor medio: 19,15</u>

Gráfico demostrativo de las variaciones observadas en la saponificación de los ésteres operando sobre distintas cantidades de muestra.

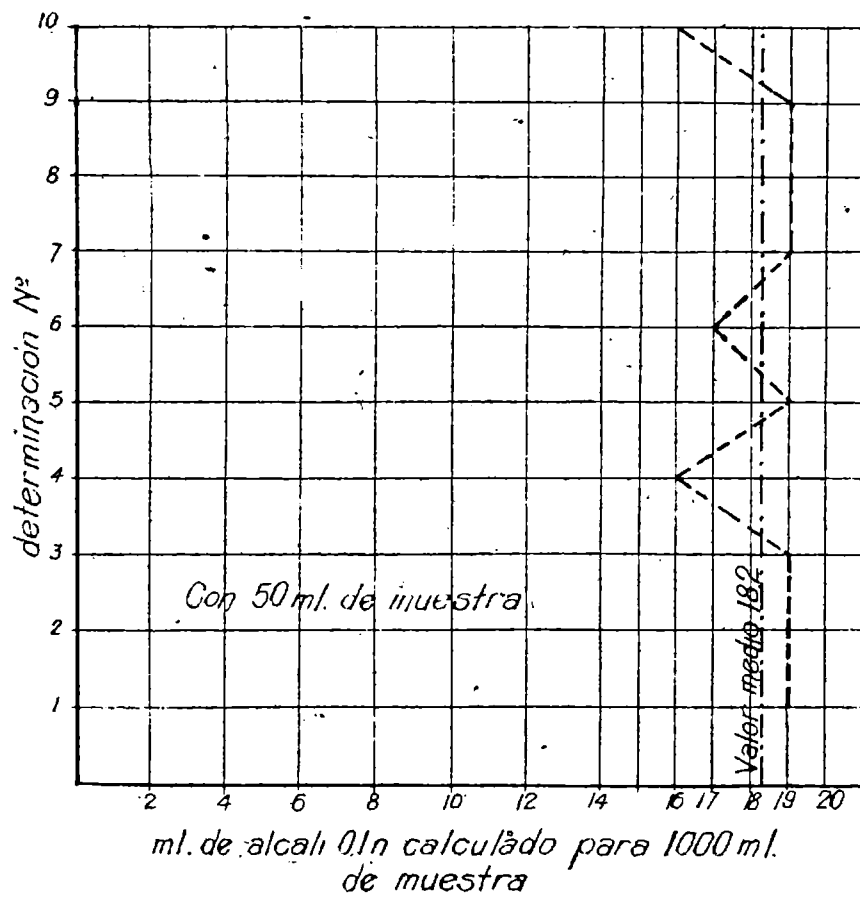
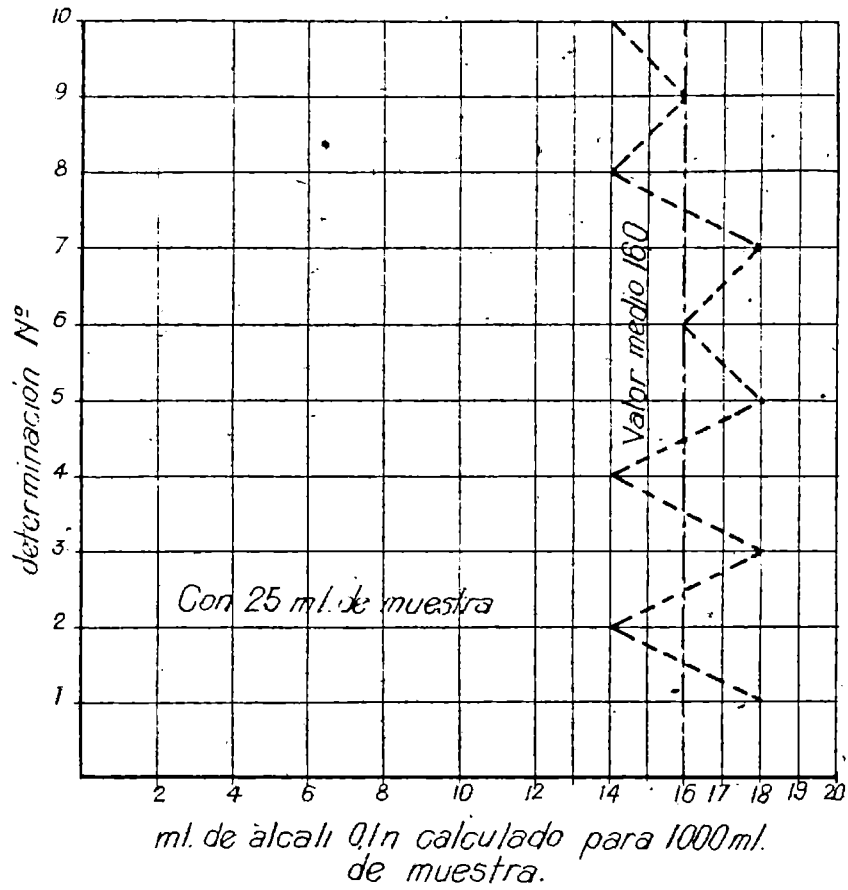
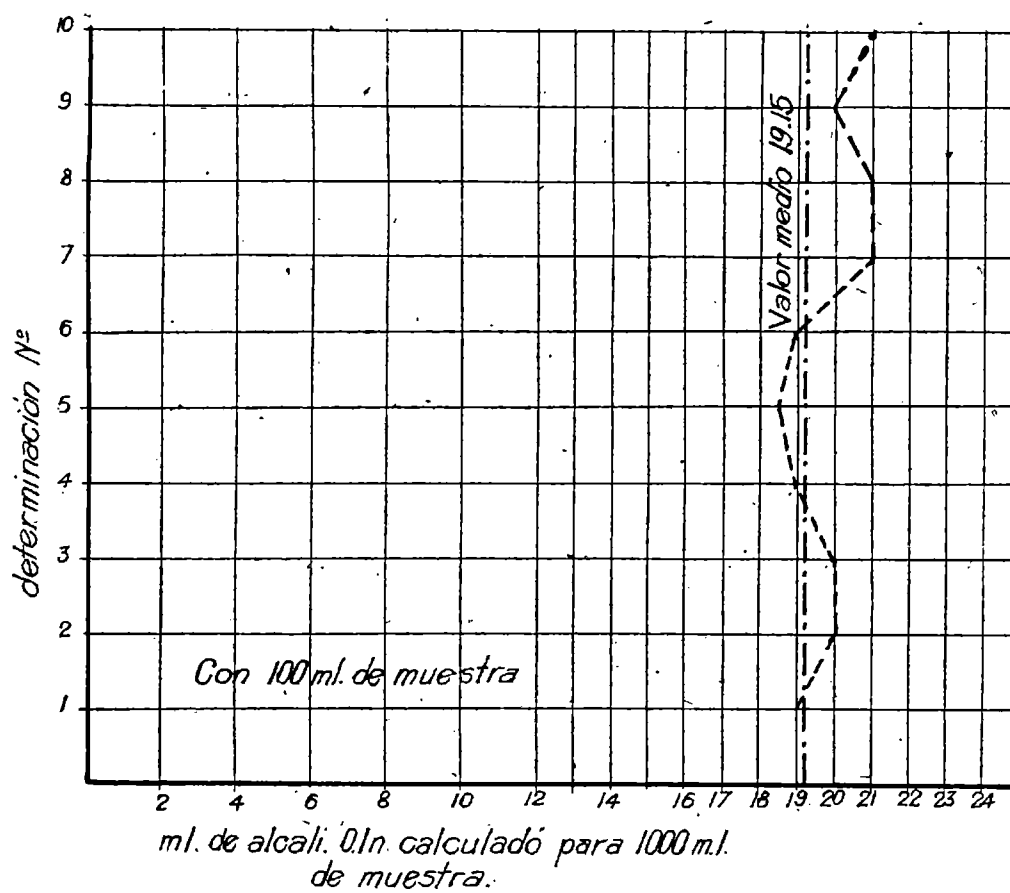


Gráfico demostrativo de las variaciones observadas en la saponificación de los ésteres operando sobre distintas cantidades de muestra.





## RESULTADOS ANALITICOS

Tabla n° 2

Grado alcohólico: 58°

Cantidad de muestra	NaOH 0,1n agregado en exceso	NaOH 0,1n gastado	NaOH 0,1n calculado para 1 litro
ml	ml	ml	ml
25	5	0,75	30,00
25	5	0,75	30,00
25	5	0,80	32,00
25	5	0,90	36,00
25	5	0,85	34,00
25	5	0,90	36,00
25	5	0,95	38,00
25	5	0,80	32,00
25	5	0,75	30,00
25	5	0,75	30,00
			<u>valor medio: 32,80</u>
50	10	2,00	40,00
50	10	1,95	39,00
50	10	1,95	39,00
50	10	2,00	40,00
50	10	2,00	40,00
50	10	2,00	40,00
50	10	2,00	40,00
50	10	1,90	38,00
50	10	2,00	40,00
50	10	1,90	38,00
50	10	2,00	40,00
			<u>valor medio: 39,40</u>
100	20	4,00	40,00
100	20	4,30	43,00
100	20	4,35	43,50
100	20	4,10	41,00
100	20	4,20	42,00
100	20	4,10	41,00
100	20	4,20	42,00
100	20	4,25	42,50
100	20	4,15	41,50
100	20	4,30	43,00
			<u>valor medio: 41,95</u>

Gráfico demostrativo de las variaciones observadas en la saponificación de los ésteres operando sobre distintas cantidades de muestra.

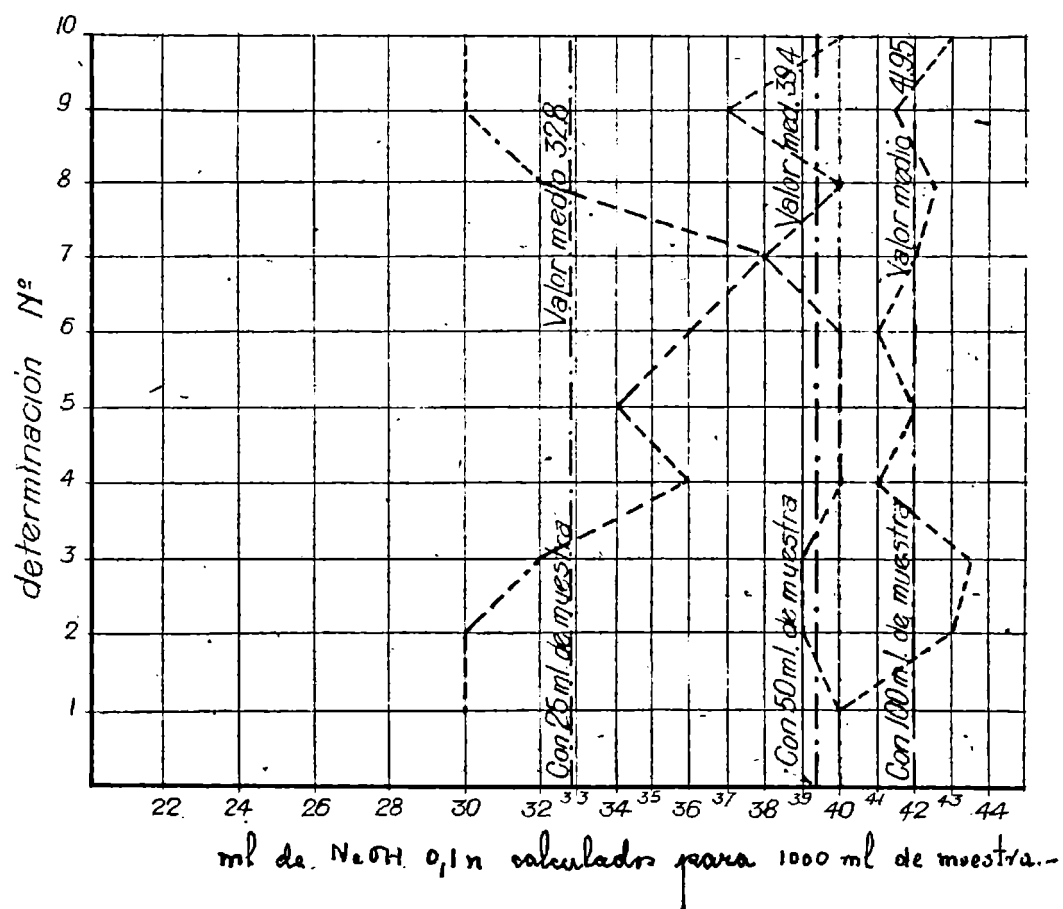
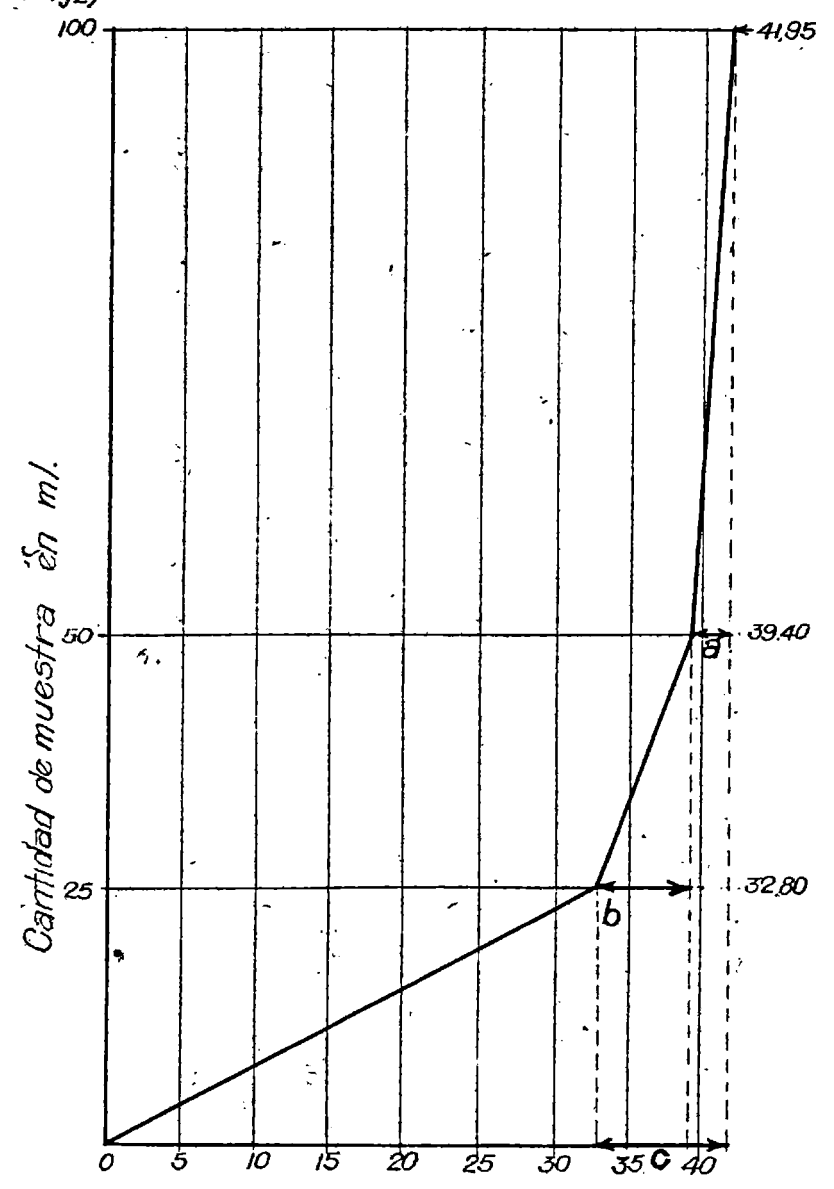
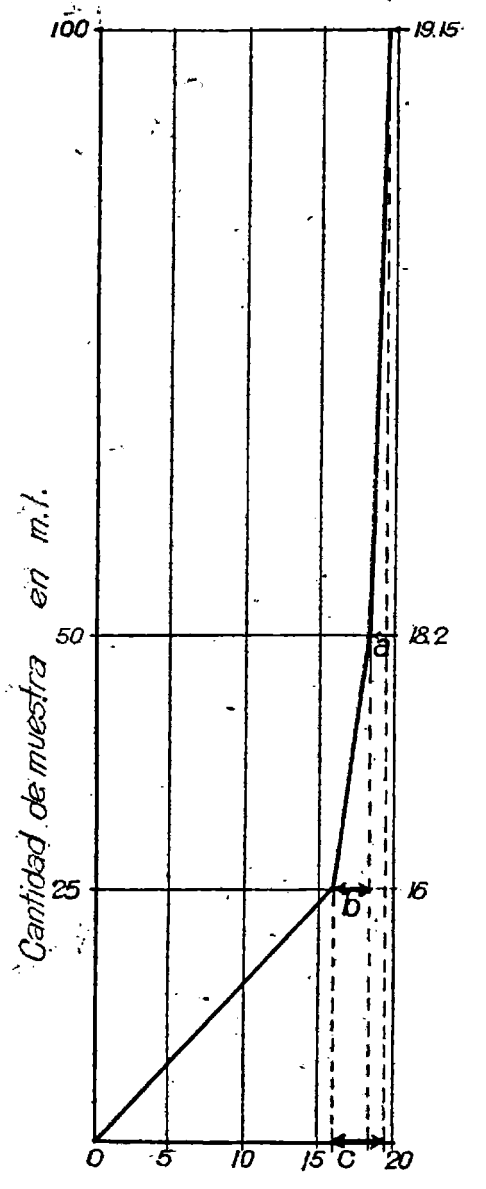


Gráfico general demostrativo de las variaciones observadas en la saponificación de los ésteres operando sobre distintas cantidades de muestra.

Valores medios  
(ver tabla N° 1 y 2)



m.l. de  $\text{NaOH-0,1n}$  calculados para 1000 ml. de muestra

a = 0.95 ml.  
b = 2.20 ml.  
c = 3.15 ml.

a = 2.55 ml.  
b = 6.60 ml.  
c = 9.15 ml.

### Neutralización y titulación de acidez.-

Casi todos los procedimientos encontrados coinciden en el sentido de que la acidez de la muestra en la que se van a determinar los ésteres debe ser previamente neutralizada, luego de lo cual se agregará el exceso de licor alcalino que por calentamiento producirá la saponificación de aquéllos.

Sin embargo un autor, Barbet (24), en trabajo presentado al 6° Congreso Internacional de Química Aplicada - Roma, 1906 - descarta esta forma de operar proponiendo la titulación de la acidez como operación aparte. Argumenta su tesis el nombrado, expresando que "la evaluación cuantitativa de ésteres se resuelve por un segundo titulaje alcalimétrico luego de una saponificación" de donde en consecuencia "la exactitud del primer dosaje acidimétrico tiene una gran importancia por su repercusión en el dosaje de ésteres ya que un error en el primero origina forzosamente un error en el segundo" "Es un inconveniente evidente" dice "que el dosaje de los ésteres no sea independiente". Por ello expresa "que es mejor hacer la titulación acidimétrica aparte" aconsejando además la adopción de una serie de medidas que consideraremos más adelante y que se refieren al empleo de un balón igual al usado para la saponificación, así como a la eliminación de la fenolftaleína como indicador, debiéndose emplear el tornasol en tintura. Es natural que haciéndose la titulación de acidez aparte, debe hacerse luego la conveniente deducción del álcali total gastado en la saponificación de los ésteres ya que en esa cantidad estará incluida la necesaria para la neutralización de la acidez libre.

Teniendo en cuenta estos antecedentes hemos realizado varias determinaciones con una misma muestra (vale decir con muestra de acidez constante) efectuando la titulación aparte en balón igual al que se efectuará la saponificación, en operación simultánea a la que ejecutamos cuando se neutraliza el líquido al que vamos a agregar el exceso de álcali para saponificar, o paralelamente a la operación realizada cuando titulamos por retorno el álcali consumido por los ésteres luego del calentamiento, comparándola con la simple neutralización pre-

//via de la muestra que va a ser sometida al proceso saponificante.

Hemos experimentado asimismo haciendo variar la concentración de la solución alcalina empleada de 0,1n, 0,02n y 0,01n, obtenidas estas dos últimas por dilución conveniente de aquélla; variamos asimismo los indicadores habiendo ensayado la fenolftaleína, el azul de bromo timol, el rojo cresol, el rojo fenol y el rojo de bromo cresol.

Como resultado de los ensayos realizados observamos por de pronto que:

cuando se trata de una muestra donde la acidez es muy acentuada, resulta inconveniente trabajar con soluciones alcalinas 0,02 n o 0,01 n por cuanto para la neutralización es necesario agregar un volumen considerable de líquido de titulación ( a veces debe llenarse dos veces la bureta ya que en ciertos casos se necesitaron hasta 43 ml de la solución 0,01 n) hecho que tiene dos inconvenientes, según los casos: 1°) si se trata de titulación de acidez exclusivamente convierte a esta determinación en una operación larga con la consiguiente pérdida de tiempo, observándose asimismo cierta inseguridad en la fijación del punto de neutralidad, especialmente cuando se ensaya con fenolftaleína, lo que tiene como consecuencia inseguridad en los resultados; y, 2°) si sobre el volumen de muestra en el que efectuamos la titulación vamos a determinar los ésteres, va a resultar una gran dilución de la misma por el gran volumen de líquido agregado lo que puede repercutir en el resultado analítico y aunque aún no hemos estudiado este aspecto del problema, ya la bibliografía nos adelanta la importancia de trabajar siempre a un mismo grado alcohólico, que en el presente caso sería evidentemente modificado con la variación de la acidez.

cuando en cambio se trata de una muestra en la cual la acidez es pequeña ( en ciertas grappas no alcanzó a 1 ml de hidróxido de sodio 0,1n para 50 ml de muestra) pensamos que resultaría beneficioso trabajar con soluciones alcalinas 0,02 n o 0,01 n por cuanto desaparecerían los inconvenientes enunciados precedentemente, pero como en cambio se pierde algo en la exactitud, sobre todo cuando se trabaja

//////

//con fenolftaleína, probamos con excelente resultado práctico la bureta de 1 ml o de 5 ml de capacidad y solución alcalina 0,1 n, con cuyos elementos se evita el peligro de que habla Barbet cuando dice que empleando solución de hidróxido de sodio 0,1 n estamos expuestos a agregar una o dos gotas de más en la neutralización, con lo que falsearíamos el resultado final en una o media décima de mililitro, diferencia que resulta bastante grande si consideramos que los resultados se expresan generalmente por 1,000 ml de muestra, con lo cual, como trabajamos sobre 50 ml, dicho error estaría multiplicado por veinte.-

El mismo problema se nos presenta al estudiar la técnica en que debe efectuarse la titulación de la acidez, si previamente o simultáneamente, y en balón igual, con la titulación del exceso de álcali empleado en la saponificación; cuando efectuamos la operación en forma previa encontramos relativos inconvenientes en medirla con soluciones alcalinas muy diluidas, inconvenientes que ya fueron enunciados; pero al efectuarla simultáneamente con la medida del exceso de álcali empleado en el proceso saponificante, como algunas técnicas exigen el agregado de un exceso de solución alcalina a veces bastante grande con relación al que se gasta en la reacción de saponificación y como se titula por retorno, debemos medir en consecuencia un exceso también grande de ácido, repitiéndose entonces el inconveniente ya apuntado y una operación larga.

En el caso de acidez mucho mayor se facilita el trabajo haciendo las dos operaciones con solución 0,1 n ya que empleándose soluciones 0,01 n o 0,02 n nos encontramos muy frecuentemente con observaciones de neutralidad, dudosas.

Además debemos tener presente que la preparación de estas últimas soluciones es una tarea más que se agrega a la determinación.

Debo hacer notar que no he encontrado diferencias efectuando la titulación de acidez cuando ésta era grande por neutralización aparte de la muestra efectuada en el momento en que se titula el álcali.

//gastado en la saponificación, en igual cantidad de líquido y en bálón igual, o por neutralización directa de la muestra a saponificar, empleando fenolftaleína como indicador, solución de hidróxido de sodio 0,1 n y bureta de 25 ml de capacidad.

Cuando se trató de pequeña acidez, tampoco encontré diferencias, haciéndolo aparte previamente, o simultáneamente con la titulación del exceso de álcali empleado en la saponificación; en este último caso utilicé para medir la acidez de la muestra una bureta de 1 ml o de 5 ml de capacidad y para medir el exceso de álcali del líquido ya saponificado una bureta común de 25 ml. Indudablemente que puede no existir concordancia perfecta entre ambas; pero con seguridad, el error debe ser muy pequeño, prácticamente nulo, si se trata de un buen material de trabajo; no obstante, resultaría siempre conveniente el contralor del mismo.

Quiero dejar sentado que los controles en los diversos procedimientos ensayados fueron efectuados por agregados de cantidades conocidas de soluciones de ácido acético a las muestras.

Con respecto al indicador debemos hacer algunas consideraciones. En efecto, ya sabemos que un indicador cambia de color cuando la concentración de iones hidrógeno o hidróxido de la solución que los contiene alcanza cierto valor, valor que en consecuencia es diferente para los distintos indicadores.

Nosotros hemos ensayado los citados al comienzo de este capítulo con resultados satisfactorios en todos los casos, aún cuando distintos; hecho fácil de preveer por los diferentes pE a que viran los indicadores.

De lo expuesto surge, pues la necesidad de que al hablar de acidez (o titulación acidimétrica) se especifique el indicador empleado.

## CONCLUSION PRACTICA PARCIAL N° 2.-

Habiendo ensayado en esta parte del trabajo el empleo de soluciones alcalinas de diferente título, buretas de distinta capacidad, varios indicadores y diversas formas de operar, y comprobado las ventajas e inconvenientes que presentan desde un punto de vista práctico, concluimos:

que se puede efectuar sin inconvenientes y sin errores apreciables la titulación de acidez o neutralización en el balón en que vamos a saponificar, empleando la solución alcalina 0,1 n, pero a condición de tener dos buretas: una de 25 ml y otra de 1 ml o de 5 ml de capacidad, para cumplir la operación con facilidad. Respecto al uso de una u otra deberemos adoptarlo según sea el índice de acidez que tenga la muestra que vamos a analizar, cuyo valor controlamos en esta forma por segunda vez.

que con referencia a la elección del indicador, como se añade al líquido que es sometido a ebullición durante un cierto tiempo para su saponificación, debemos posponer su estudio definitivo para más adelante por si hubiera alguna descomposición o variación en la coloración por la acción de la temperatura; pero haciendo presente la necesidad de señalar siempre el indicador empleado.-



Cantidad de álcali en exceso a agregar.-

Con respecto a este punto debemos considerar primordialmente que necesitamos por lo menos la cantidad de álcali necesaria para saponificar los ésteres existentes en 50 ml de muestra ya previamente neutralizada, por cuanto las pruebas realizadas para estudiar este aspecto se hicieron con esa cantidad. De otra manera durante el proceso de saponificación, si hemos agregado una cantidad de álcali menor a aquélla, se produciría el viraje del indicador ya que el líquido perdería su alcalinidad por total consumo del álcali agregado, en cuyo caso sería necesario repetir la determinación por cuanto sino no existiría seguridad de que se hubieran saponificado todos los ésteres.

Utilizando 50 ml de muestra, la mayoría de las técnicas aconseja el empleo de un exceso de 20 ml de solución alcalina 0,1 n exclusivamente para la saponificación. (Villavecchia(26), Comenge(27), Taveira y Alves Filho(28), Carranza(14), Saglier(12); una sola preconiza el empleo de 10 ml de álcali en exceso: Tobie (44), y dos, el agregado de un exceso de 50 ml; A.O.A.C. 1940 (31) y Scotts(29).-

Es natural que estas cantidades dependan del contenido en ésteres de las bebidas y así vemos de acuerdo con nuestra práctica realizada en grappa que el gasto de álcali normalmente nunca fué mayor de 20 ml para 50 ml de muestra, por cuyo hecho podríamos aceptar esta cantidad como el mínimo necesario en todos los casos sin peligro de tener que repetir la operación de saponificación por falta de solución alcalina saponificante, sobre las muestras utilizadas en este trabajo.

Pero con ésto tendríamos nada más que fijado un límite mínimo y eso es solo una parte de nuestro problema.

Recorriendo los trabajos y textos consultados nos encontramos con que ninguno de los autores explica el porqué de la cantidad de álcali que preconizan para sus procedimientos, ni aún Barbet (trabajo citado) cuando expresa al respecto que "es necesario que haya tres ve-

//ces más álcali que el necesario para descomponer los ésteres existentes" y que "si luego del ensayo se encuentra que la proporción de álcali era inferior a dos veces la cantidad de álcali útil, es necesario repetir el análisis usando la cantidad mencionada."

En virtud de estos antecedentes hemos practicado diversos ensayos siempre sobre una misma muestra, de modo que la cantidad de ésteres sea constante, haciendo variar la cantidad de hidróxido de sodio 0,1 n, de acuerdo a los procedimientos encontrados.

Observando la tabla n° 3 en la que figuran los resultados experimentales obtenidos empleando excesos de solución alcalina que varían de 10 a 20 a 30 y a 50 ml, siempre para 50 ml de muestra, vemos que empleando 10 ml de álcali 0,1 n obtenemos resultados irregulares y bajos, mientras que empleando un exceso de 50 ml, los datos obtenidos son también irregulares, pero bastante altos comparados con los resultados obtenidos anteriormente; ahora bien, si comparamos las cifras obtenidas en ambos casos con las que nos dieron las determinaciones efectuadas por agregado de excesos de 20 o 30 ml de álcali 0,1 n vemos que los datos que nos proporcionaron estos últimos ensayos son de valor intermedio entre aquéllos, y por otra parte, mucho más regulares.-

## CONCLUSION PRACTICA PARCIAL N° 3.-

De acuerdo a lo observado experimentalmente concluimos, en forma provisoria, que se debe seguir lo afirmado por Barbet en el sentido de que se obtendrán resultados concordantes empleando siempre tres veces aproximadamente -con un mínimo de dos veces- el álcali necesario para la saponificación de los ésteres contenidos en 50 ml de muestra, hecho éste que implica la necesidad de una determinación previa que puede ser definitiva o nó según el resultado obtenido en la misma.

Este criterio descarta el de que se fije una cantidad determinada o prefijada de álcali a agregar en todos los casos, pues ya hemos visto como varían los resultados al variar la concentración de álcali con respecto a los ésteres contenidos en la muestra y ya sabemos cuan variables son éstos en las diferentes bebidas y aún para un mismo tipo de aquéllas por los muchos factores que influyen en su formación, aumento o pérdida.

No obstante, debemos expresar que consideramos este problema -de la cantidad de álcali a agregar- directamente ligado a su acción sobre los aldehídos, por cuyo motivo dejamos su resolución definitiva para cuando estudiemos el problema de la influencia en los resultados de la cantidad de aldehídos contenidos en la muestra y sobre los cuales la acción de la solución alcalina depende, según dijimos, de la naturaleza del álcali (en nuestro caso nó varía), su concentración y la temperatura a la que se somete la mezcla.-

## RESULTADOS ANALITICOS

Tabla n° 3.-

Grado alcohólico: 52°

Cantidad de muestra	NaOH 0,1n agregado en exceso	NaOH 0,1n de saponificación.	NaOH 0,1n de saponificación calculado para 1 litro.
ml	ml	ml	ml
50	10	8,3	166
50	10	8,5	170
50	10	8,3	166
50	10	8,6	172
50	10	8,3	166
50	10	8,7	174
50	10	8,6	172
50	10	8,6	172
			<u>valor medio: 169,75</u>
50	20	8,9	178
50	20	9,0	180
50	20	8,9	178
50	20	8,8	176
50	20	8,9	178
50	20	8,9	178
50	20	8,8	176
50	20	8,9	178
50	20	9,0	180
			<u>valor medio: 178,00</u>
50	30	9,0	180
50	30	9,0	180
50	30	9,1	182
50	30	9,0	180
50	30	9,0	180
50	30	9,0	180
50	30	9,1	182
50	30	9,0	180
50	30	9,0	180
50	30	9,2	184
			<u>valor medio: 180,80</u>
50	50	9,4	188
50	50	10,0	200
50	50	9,6	192
50	50	9,6	192
50	50	10,0	200
50	50	9,8	196
50	50	9,6	192
50	50	9,8	196
50	50	9,9	198
50	50	9,8	196
			<u>valor medio: 195,00</u>

Gráfico demostrativo de las variaciones observadas en la saponificación de los ésteres operando con cantidades distintas de solución alcalina 0,1 n para una misma cantidad de muestra (50 ml.).

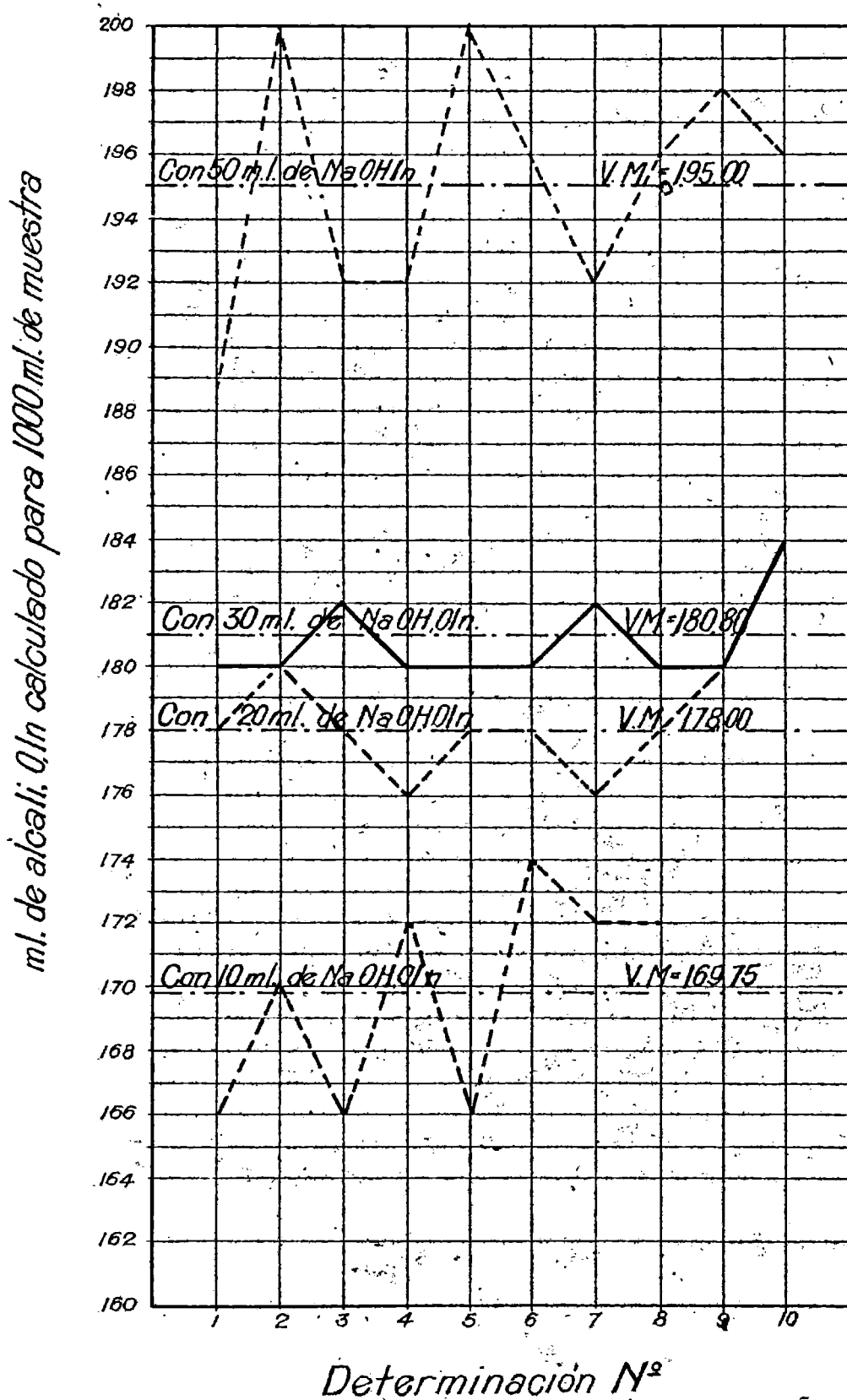
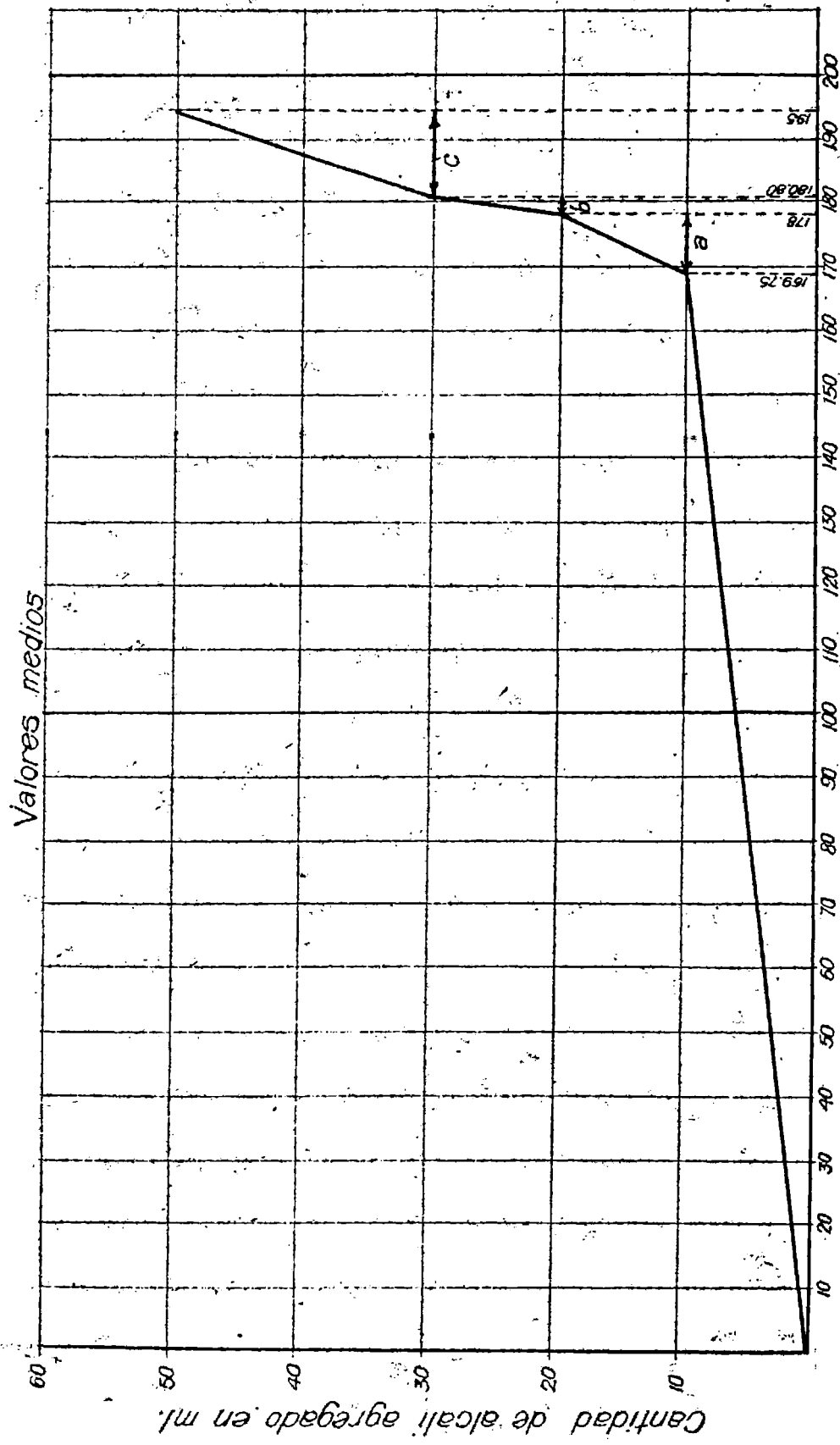


Gráfico general demostrativo de las variaciones observadas en la saponificación de los ésteres operando con cantidades distintas de solución alcalina 0,1 n para una misma cantidad de muestra (50 ml.).



ml. de solución alcalina 0,1 n calculados para 1000 ml. de muestra  
 $a = 8,25 \text{ ml.}$      $b = 2,80 \text{ ml.}$      $c = 14,20 \text{ ml.}$

### Tiempo de ebullición.-

En este aspecto sería necesario considerar cual es la clase de álcali que se va a emplear en la saponificación y cual va a ser la forma de calentamiento, ya sea directo o al baño-maría.

Estudiaremos ahora el empleo de una solución 0,1 n de hidróxido de sodio como agente alcalino saponificante y el calentamiento directo a ebullición suave, dejando para más adelante el estudio de los procedimientos que aconsejan el calentamiento a baño-maría o el empleo de otros elementos alcalinos, etc.

La gran mayoría de autores siguiendo normas establecidas desde muy antiguo establecen en sus procedimientos de determinación de ésteres en bebidas destiladas, que el tiempo que se debe calentar a ebullición para obtener la saponificación total de aquéllos es de una hora; no obstante, el criterio moderno ha variado en este sentido; vemos así que Mohler (12) expresa al respecto que una solución de uno en mil; de acetato de etilo en alcohol a 50°, es completamente saponificada en media hora, aunque al afirmar que esta cantidad es raramente alcanzada en los "alcoholes" concluye que con una hora de ebullición se tienen todas las garantías de seguridad de una completa saponificación. Allen en su libro Commercial Organic Analysis (16) aconseja también como suficiente un calentamiento de media hora a ebullición con lo que ya tenemos reducido a la mitad el tiempo clásico de una hora que se exigía para la saponificación total de los ésteres.

Como sería sin duda interesante la disminución del tiempo de calentamiento a ebullición, asegurando no obstante la saponificación completa de los ésteres, citaremos a este respecto que ya en 1910 un autor, Hanow (30) técnico del Instituto de la Fermentación de Berlín, consideraba suficiente un calentamiento a ebullición de diez minutos y que más modernamente Hossack (43) según trabajo publicado en la revista "Analyt" hizo numerosas experiencias que lo llevaron a afirmar que aún un tiempo de media hora excede las necesidades a-

//nalíticas y que el exceso de tiempo va acompañado naturalmente de un mayor uso del aparato y espacio dedicados a cada muestra examinada, por cuyos hechos y considerandos afirma que es necesario solamente un calentamiento a ebullición de diez minutos, y confirma su tesis con la siguiente tabla de resultados.

Volumen de NaOH 0,1 n requerido para hidrólisis de ésteres

muestra n°	<u>tiempos de ebullición</u>		
	10 minutos	30 minutos	60 minutos
1	-	0,25	0,25
2	-	0,30	0,30
3	-	0,60	0,60
4	-	0,80	0,80
5	1,10	1,10	-
6	10,30	-	10,30
7	4,40	-	4,40
8	0,25	-	0,25
9	0,70	-	0,70
10	0,40	-	0,40
11	0,80	-	0,80
12	5,30	-	5,30

Resultados expresados en ml de NaOH 0,1 n. La naturaleza de las muestras varió desde el espíritu rectificado de buena calidad al espíritu ilícito. Su fuerza varió desde 26,84 a 61,8 % de alcohol en volumen.-

Nos encontramos en consecuencia con notorias diferencias de criterio en este aspecto de nuestro problema por lo cual hemos procedido a realizar determinaciones habiendo estipulado ya la cantidad de muestra y de álcali que vamos a emplear. Los demás requisitos y elementos de trabajo son los mismos que los empleados en los primeros estudios.

Prácticamente hemos obtenido una ebullición suave, regular, de marcha casi sin sobresaltos, por calentamiento directo, elevando gradualmente en forma lenta la temperatura de la mezcla de bebida y exceso de solución alcalina para lo cual ha sido necesario un tiempo aproximado de 20 minutos antes de que comience la ebullición, que o-

////



operando en esta forma, se caracteriza por un desprendimiento bastante regular de pequeñas burbujas, pero que ha sido menester mantener por vigilancia constante.

Las determinaciones fueron hechas variando el tiempo de ebullición desde 10 minutos, a media hora y a una hora, operando siempre sobre una misma grappa.

Los resultados experimentales figuran en la tabla n° 4.-

Observamos, en la tabla de resultados analíticos, que manteniendo la ebullición durante media hora obtenemos datos intermedios entre los obtenidos trabajando con ebullición de una hora -que son más altos- y de diez minutos -que son más bajos- así como también una mayor regularidad en los resultados, circunstancia esta última que no se observa en los dos últimos casos ya que existen diferencias entre el máximo y mínimo de hasta 6 ml de solución alcalina calculando la necesaria para la saponificación de 1,000 ml de muestra.-

Por otra parte, al considerar el tiempo de ebullición, debemos tener presente también que por nuestro método de calentamiento con aumento gradual de la temperatura hasta alcanzar aquel estado y luego de enfriamiento posterior que también resulta lento, si bien mantenemos el líquido en ebullición durante media hora, es lógico pensar que unos minutos antes y unos minutos después de ésta, estaremos casi en la temperatura de ebullición, por lo que prácticamente nos acercamos bastante al tiempo clásico de una hora.

Como no hemos podido obtener datos concordantes por mantenimiento de la ebullición durante 10 minutos o una hora, siguiendo a Allen afirmamos que es suficiente media hora como tiempo durante el cual debe mantenerse la ebullición de la mezcla (muestra más álcali en exceso) hecho confirmado por nuestros ensayos; consideramos asimismo necesario que al comenzar el calentamiento se vaya lenta y gradualmente elevando la temperatura hasta obtener y regularizar en forma cómoda, aunque con vigilancia constante, la ebullición del líquido.

Nos referimos aquí al calentamiento directo sobre mechero y con

//tela metálica, dejando en consecuencia para más adelante la observación de si el calentamiento a baño-maria tiene algunas ventajas, como asimismo ratificaremos o rectificaremos el concepto de que el tiempo de ebullición tiene su influencia en los resultados usando a-  
quel procedimiento.

## CONCLUSION PRACTICA PARCIAL N° 4.-

Haciendo la salvedad de que más adelante estudiaremos otra forma de calentamiento, podemos expresar aquí de acuerdo a los resultados de nuestras experiencias:

que media hora de ebullición de la muestra con el exceso de solución alcalina es el tiempo que adoptamos, justificando nuestro criterio con la mayor semejanza en los datos (curva representativa sin bruscas oscilaciones);

que dicho tiempo debe tomarse desde el momento que se obtiene una ebullición suave y de régimen bien regular, características que exigen elevación lenta y gradual de la temperatura y observación constante de la operación.-

- - - - -

## RESULTADOS ANALITICOS

Tabla n° 4.-

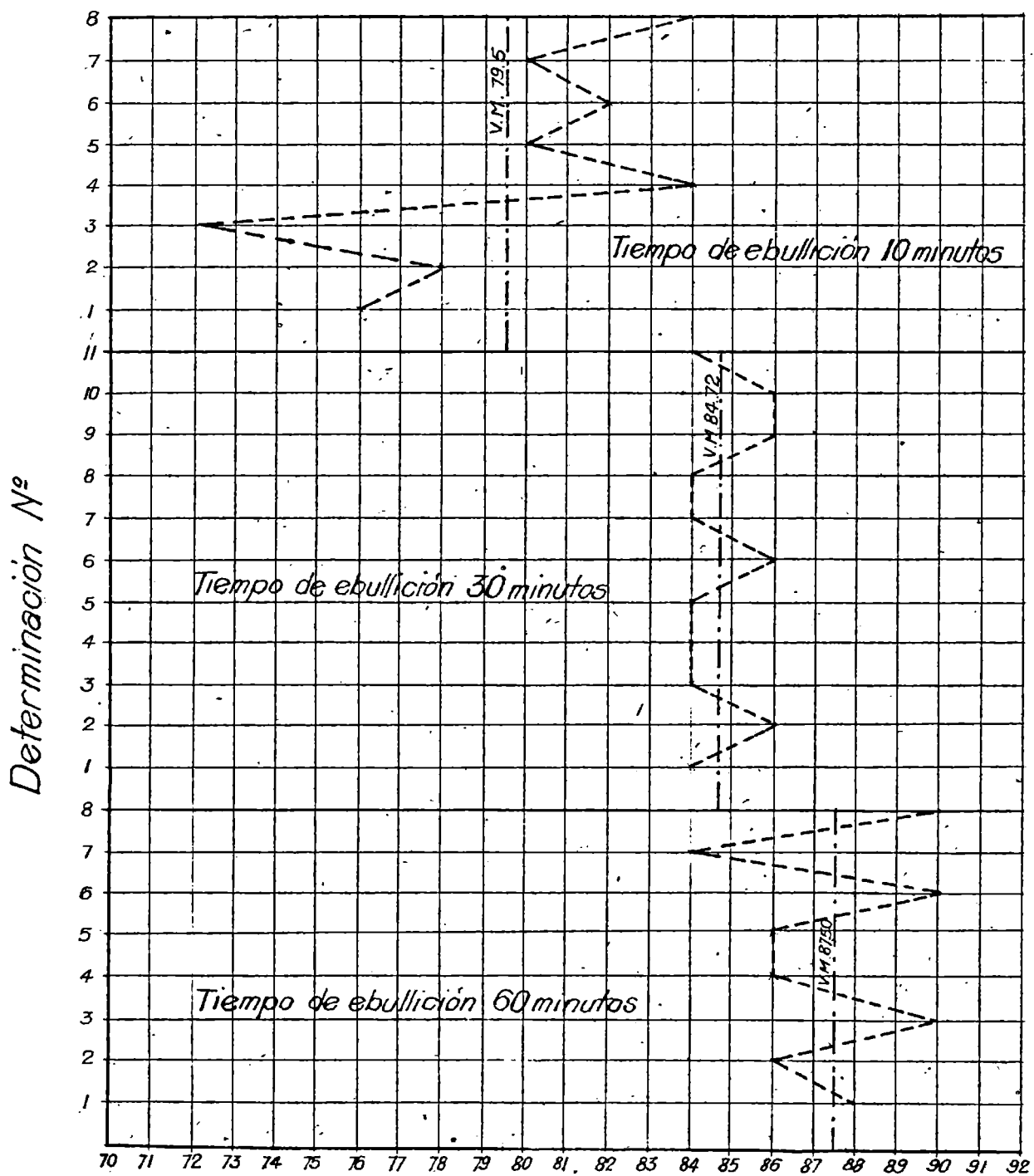
Grado alcohólico: 53°

Cantidad de muestra	NaOH 0,1n agregado en exceso	Tiempo de ebullición	NaOH 0,1n gastado	NaOH 0,1n calculado para 1 litro
ml	ml	minutos	ml	ml
50	12	10	3,9 ?	58
50	12	10	3,8	76
50	12	10	3,9	78
50	12	10	3,6	72
50	12	10	4,2	84
50	12	10	4,0	80
50	12	10	4,1	82
50	12	10	4,0	80
50	12	10	4,2	84
			(1)	<u>valor medio: 77,11</u>
50	12	30	4,2	84
50	12	30	4,3	86
50	12	30	4,2	84
50	12	30	4,2	84
50	12	30	4,2	84
50	12	30	4,3	86
50	12	30	4,2	84
50	12	30	4,2	84
50	12	30	4,3	86
50	12	30	4,3	86
50	12	30	4,2	84
				<u>valor medio: 84,72</u>
50	12	60	4,4	88
50	12	60	4,3	86
50	12	60	4,5	90
50	12	60	4,3	86
50	12	60	4,3	86
50	12	60	4,5	90
50	12	60	4,2	84
50	12	60	4,5	90
				<u>valor medio: 87,50</u>

La cantidad de álcali fué obtenida por determinación previa aproximada.

(1) Sin tomar en cuenta la primer determinación que dió resultado posiblemente anormal, el valor medio es de: 79,50

Gráfico demostrativo de las diferencias observadas en la saponificación de los ésteres variando el tiempo de ebullición.



ml. de solución alcalina 0,1n calculados para 1000ml. de muestra.

Seguimos estudiando el proceso de saponificación, en otros aspectos.

Unión balón - refrigerante, en el aparato empleado para esta operación o en el de la destilación previa.

Esta unión balón-refrigerante es citada como detalle de técnica solo en algunos casos.

Así tenemos que Tobie en un trabajo publicado en la revista FOOD RESEARCH (44) en el año 1941, al hacer la descripción del aparato empleado en el método que preconiza habla de tapones de goma para la unión del recipiente de saponificación con el refrigerante a reflujo, mientras Comenge (27) en su libro "Análisis de alimentos" se expresa con el término genérico de tapón sin especificación alguna acerca de su naturaleza y características.

A excepción de dos, ninguno de los autores o tratadistas consultados hace referencia a la probable acción de los vapores alcohólicos que se producen durante el calentamiento sobre los tapones de corcho o caucho que son los comunmente empleados, cuya acción se ejercería no solamente durante la operación de saponificar sino también al realizarse la destilación previa de la muestra -para efectuar las determinaciones sobre el producto de la destilación- requisito que exigen algunos autores.

A este respecto considera uno de los autores a que nos referimos, Barbet, (24), que para la saponificación "es necesario proscribir los tapones de corcho o caucho porque los vapores alcohólicos disuelven ciertas sustancias extractivas que falsean el análisis". Expresa entonces que el refrigerante ascendente debe ser ajustado directamente sobre el balón y dice que "es ésta una condición demasiado desconocida a pesar de que tiene gran importancia, sobre todo cuando los tapones son nuevos". Cuando el autor citado se refiere a la destilación de la muestra -que considera necesaria únicamente cuando se trata de aguardientes coloreados- dice que el aparato destilatorio no debe llevar ningún tapón de corcho ni de caucho en probable contacto

///

//con vapores alcohólicos expresando que "la importancia de esta recomendación es fácil de poner en evidencia: en efecto, si en un balón con tapón de corcho o caucho se destila un alcohol que decolora el permanganato de potasio en 30 minutos, por ejemplo, el alcohol recogido por destilación lo decolorará en 2 o 3 minutos solamente. Ha sido pues contaminado". Recomienda en consecuencia que en el aparato destilatorio las uniones se hagan con papel pergamino y bandas finas de caucho para sostenerlo, cuyas uniones no contaminan el alcohol y dan una cierta elasticidad al aparato.

Tobie (44) dice que "algún material ácido es extraído del tapón de goma por los vapores de alcohol" lo que dá, sin duda, valores más altos de gasta de NaOH 0,1 n.-

Vamos pues a considerar cada uno de los casos previstos.-

De acuerdo a las constancias experimentales que figuran en la tabla n° 5 observamos que trabajando durante la saponificación con tapón de corcho libre o sea sin protección, vale decir, estando expuesto a la acción de los vapores alcohólicos, obtenemos datos algo más altos que cuando protegemos el corcho con capucha de "papel plateado" (estaño), de la acción de dichos vapores.

Se observa además que en circunstancias que operamos con corcho libre sobre bebida incolora se nota que el líquido, luego de la saponificación, toma lentamente y al rato de comenzar el calentamiento una coloración caramelo bastante acentuada, hasta puede llegar a un marrón de diferente intensidad según los tipos de muestra, apareciendo asimismo un pequeño residuo en forma de finas partículas coloreadas menos o más intensamente que el líquido donde se realiza la saponificación. Estas partículas o residuo son fácilmente observables durante el enfriamiento final del proceso. Se observa también que a las pocas operaciones el tapón pierde su elasticidad haciendo indudablemente el cierre, que debería ser hermético, menos perfecto, por cuya razón hay que cambiarlo; y que en tapones nuevos el fenómeno de coloración y precipitado se acentúa aunque puede ir disminuyendo con el empleo repetido del corcho.

///

///Cuando en cambio, colocamos cubriendo el corcho la capucha de papel plateado, el líquido de saponificación se mantiene límpido aunque también algo coloreado, aunque con mucha menos fuerza que en el caso anterior; se trata de una leve coloración amarillenta que molesta poco para la titulación alcalimétrica. La primer coloración citada, por el contrario, molesta bastante. Esta coloración se debe a la acción resinificadora del álcali sobre los aldehidos.

Estos hechos nos hacen pues aceptar el criterio sustentado desde muy antiguo por Barbet en cuanto afirma la acción de los vapores alcohólicos sobre el corcho, fenómeno que se acentúa cuando se trabaja con corcho nuevo, según nuestra observación experimental.

Esta acción, según Barbet y según nuestra experiencia, influye notoriamente en el mayor consumo de álcali colocado para la saponificación, mayor consumo que dicho autor atribuye a la presencia de sustancias extractivas saponificables -arrastradas desde el corcho por los vapores alcohólicos- y que en consecuencia modifican los resultados en más.

En cuanto a la cubierta del corcho con la cápsula de papel plateado, medio que aplicamos para evitar el contacto del tapón con los vapores alcohólicos, presenta desde un punto de vista práctico algunos inconvenientes, como ser, su poca duración (cuando más dos o tres determinaciones); el cierre perfecto es más difícil, notándose además que en general el papel queda luego de cada operación con cierta opacidad habiendo perdido el brillo en la parte expuesta a los vapores alcohólicos, hechos que nos hacen pensar asimismo en un ataque que podría falsear los resultados en sentido desconocido. Otro inconveniente es que la capucha se rompe con facilidad, exponiéndonos en tal caso a repetir la operación de saponificación por ataque del corcho por los vapores alcohólicos, hecho que como vimos modifica abiertamente los resultados.

Ahora bien, al operar, cubriendo el tapón de corcho, nos encontramos con líquidos resultantes de la saponificación límpidos y asimismo, como ya lo expresáramos, con datos analíticos más bajos.

///



///Por las consideraciones expuestas y por los resultados de nuestras experiencias afirmamos con Barbet en la imprescindible necesidad de evitar todo contacto de los vapores alcohólicos con sustancias peligrosas en el sentido de que pueden falsear -por consumir álcali o modificar la ya compleja composición del líquido- los resultados.

Por éello preconizamos el empleo de la unión directa esmerilada del balón con el refrigerante de reflujo; con su empleo hemos obtenido una unión prácticamente perfecta por lo hermético del cierre, por la comodidad, por la limpieza de operación, y porqué con su empleo se habrá evitado sin duda alguna el peligro inherente a factores extraños al procedimiento de saponificación.

Debemos hacer presente aquí que trabajando con uniones esmeriladas el líquido resultante de la saponificación queda límpido luego de la operación; asimismo observamos en la tabla de resultados que éstos son bastante semejantes a los obtenidos con corcho cubierto de papel plateado.

En cuanto respecta a la influencia de las uniones balón-tubo acodado-refrigerante, debemos destacar que no hemos podido probar experimentalmente lo aseverado por el autor citado en cuanto afirma la influencia en los resultados de las materias extractivas saponificables que ceden los corchos bajo la acción de los vapores alcohólicos producidos en la destilación y eso que esta acción tendría que tener mayor valor que la ejercida durante la saponificación que se realiza en un tiempo 4-5 veces menor. Observamos por el contrario que no hay modificación apreciable en los resultados obtenidos por saponificación del producto de destilación, comparados con los obtenidos por saponificación directa de la muestra.

Lo que sí debemos destacar es que cuando blindamos los corchos del aparato de destilación con papel plateado, no observamos que el resto líquido que queda en el balón tome color marrón oscuro, ni tampoco la presencia de un pequeño depósito de finas partículas coloreadas en aquel tono, características dables de observar en todos los casos en que se trabaja con corchos sin protección. Trabajando con

///

///uniones esmeriladas el líquido residual es francamente límpido, sin impurezas, al igual que lo que sucede trabajando con corcho blindado.

Estos hechos nos hacen pensar entonces en que se puede aceptar un ataque del corcho por los vapores alcohólicos, a semejanza de lo que sucede durante la saponificación, pero naturalmente en término más acentuados por el mayor tiempo de exposición; pero, y difiriendo con Barbet, podemos pensar que este ataque no tiene influencia -la la tiene muy poca- o por lo menos no la hemos podido demostrar, en la composición del producto de la destilación por lo menos en cuanto respecta a sustancias que puedan influir en uno u otro sentido en los resultados de las determinaciones de ésteres. Este concepto nos ha sido proporcionado por los datos experimentales obtenidos.

Es indudable que en nuestras experiencias hemos omitido trabajar con tapones de caucho ya sea en el aparato de saponificación como en el de la destilación pero es indudable también que éstos presentan algunos inconvenientes de los cuales el más notable es su ataque por los vapores alcohólicos, a semejanza de lo que sucede con los tapones de corcho. En efecto, este ataque es aceptado sin reservas por Barbet

Por lo expresado, insistimos en nuestra afirmación anterior para el aparato de saponificación, en la conveniencia del empleo en el de destilación de uniones directas esmeriladas, que son cómodas, limpias prácticas y dan cierre prácticamente hermético, no obstante no poder afirmar esta insistencia en el caso de la destilación con pruebas que demuestren modificación alguna en los resultados si se empleara corcho o caucho.

Esta observación se refiere exclusivamente a la determinación de ésteres. Ampliada en el sentido de un análisis completo, debemos pensar en la notoria influencia de esas materias extractivas en cualquier determinación a efectuarse sobre el resto líquido que queda en el balón de destilación, por ejemplo, determinación de acidez fija, o cualquiera otra colorimétrica, así como influencia sobre los resulta

///

///dos de tales determinaciones en uno u otro sentido.-

## CONCLUSIÒN PRACTICA PARCIAL N° 5.-

Estudiados los distintos tipos de unióñ del balón con el refrigerante ascendente en el aparato de saponificaciòn, debemos destacar inconvenientes eminentemente prácticos en el empleo de tapones de corcho, libre o descubierta, y cubierta, pero sobre todo una influencia notoria en el valor de los datos por la probable acciòn de los vapores alcohólicos.

Por estas razones estimamos que se debe emplear exclusivamente la unióñ esmerilada que es prácticamente perfecta, cómoda y con la que se evitan las dificultades anotadas.-

Respecto a las uniones balón-tubo acodado-refrigerante en el aparato de destilaciòn se repiten los inconvenientes prácticos empleando tapones de corcho y aún cuando los datos no se modifican para los ésteres, aconsejamos el uso de uniones esmeriladas que resultan beneficiosas sobre todo si ampliamos nuestra afirmaciòn al análisis completo en cuyo caso podemos emplear el líquido residual de la destilaciòn para otras determinaciones (ejemplo: acidez fija).-

- - - - -

## RESULTADOS ANALITICOS

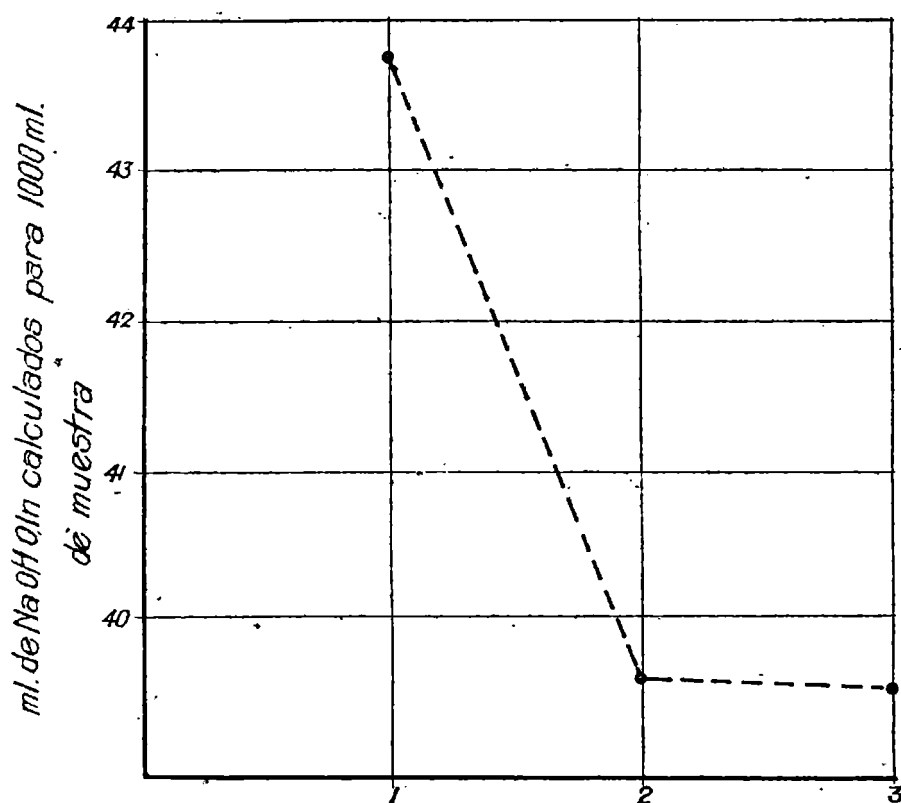
Tabla n° 5

Grado alcohólico: 55°

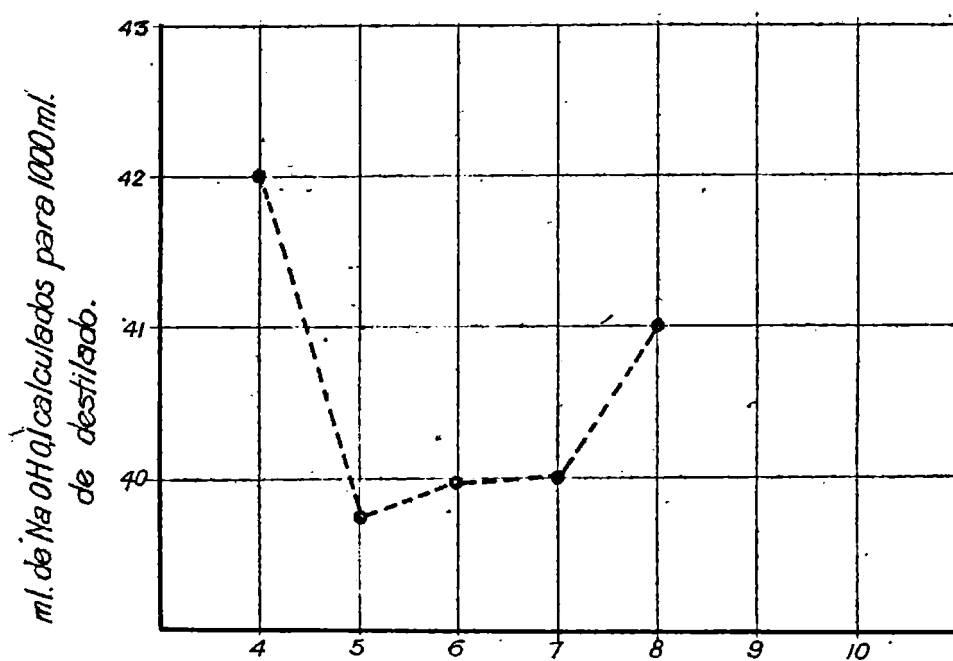
APARATO DE SAPONIFICACION (uniones)	saponificación			
	directamente sobre 50 ml de muestra.		sobre 50 ml de destilado en aparato de tapón cor- cho, sin blindar	
	ml NaOH 0,1 n		ml NaOH 0,1 n	
	gastado	calculado para 1 li- tro	gastado	calculado para 1 li- tro
1) corchos nue- vos sin blindar	2,15	43	2,1	42
	2,20	44	2,0	40
	2,10	42	2,2	44
	2,30	46	2,1	42
		val.medio: <u>43,75</u> ①		valor medio: <u>42,00</u> ④
2) corchos nue- vos blindados c/papel de Sn	2,0	40	2,0	40
	2,1	42	2,0	40
	2,0	40	2,0	40
	2,0	40	1,95	39
		val.medio: <u>40,50</u> ---		valor medio: <u>39,75</u> ⑤
3) corchos nue- vos blindados c/papel de Sn		② v.m.: 40,65		unión en aparato de des- tilación c/corcho blindado c/papel de Sn.
	2,0	40	2,0	40
	2,0	40	2,0	40
	2,1	42	1,95	39
	2,1	42	2,0	40
	2,0	40	2,0	40
	val.medio: <u>40,80</u> ---		valor medio: <u>39,80</u> ⑥	
4) esmerilada	2,1	42	2,0	40
	2,0	40	2,0	40
	2,0	40	2,0	40
	2,0	40	2,0	40
		val.medio: <u>40,50</u> ---		valor medio: <u>40,00</u> ⑦
5) esmerilada		③ v.m.: 40,56		unión esmerilada en apa- rato de destilación.
	2,1	42	2,1	42
	2,0	40	2,0	40
	2,0	40	2,0	40
	2,0	40	2,1	42
	2,1	42	2,1	42
2,0	40	2,0	40	
	val.medio: <u>40,66</u> ---		valor medio: <u>41,00</u> ⑧	

1-2-3-4-5-6-7-8 = puntos del gráfico. -

Gráfico demostrativo de las variaciones observadas en la determinación de los ésteres operando en las condiciones que figuran en la tabla N° 5.



Condición N° (ver tabla N°5)



Condición N° (ver tabla N°5)

Muestra directa o su producto de destilación.-

Vamos a considerar ahora otro aspecto de la cuestión sobre el que existen divergencias de criterio: conviene trabajar sobre la muestra directamente o sobre el producto de su destilación? Como veremos a continuación, son varios los problemas que aquí se plantean.-

En efecto, revisando los procedimientos y consejos hallados en la bibliografía consultada nos encontramos con que existe mayoría de tratadistas que afirman que se debe trabajar sobre el producto de destilación.

Así tenemos a M. Lang que en un trabajo publicado en el Bulletin de L'Association des Chimistes de Sucrerie, n° 19 página 1238, asegura haber realizado ensayos que le indican que pueden cometerse errores de hasta 100 % en el dosaje de ésteres cuando se trabaja sobre alcoholes no destilados; por su parte Barbet (24) aconseja trabajar sobre el producto de la destilación de la muestra cuando se trata de aguardientes coloreados en cuyo caso el color y las materias extractivas disueltas -en especial las resinas de la madera de que están contruídos los toneles de almacenamiento, que son saponificables - tendrían notoria influencia en los resultados, por consumir álcali o dificultarían inevitablemente las titulaciones alcalimétricas, por su coloración. Pero, agrega, por otra parte, esa operación previa presenta sus inconvenientes, por cuanto "los ácidos libres actúan sobre el alcohol en estado de vapor y forman ésteres que no existían". Tobie(trabajo citado) expresa también que la destilación previa sirve además para determinar si hay color de la madera de los toneles o color agregado de caramelo, porque en el primer caso quedaría un residuo turbio o un pequeño precipitado, mientras que en el segundo se observaría ausencia completa de turbidez. Esta consecuencia adquiere ahora importancia en virtud de un reciente decreto del Poder Ejecutivo Nacional autorizando el agregado de caramelo a las bebidas destiladas en las dosis necesarias para su coloración. Por su parte el Dr. Carranza (14) aconseja la destilación previa en el caso de tratarse

///

//de bebidas coloreadas, seguramente, porque la coloración impide en la determinación directa una buena observación del viraje del indicador en la titulación y también por la probable influencia en los resultados de las sustancias saponificables que la bebida toma de los recipientes de almacenamiento.-

Los métodos propuestos por Taveira y Alves Filho, Saglier, Scott, la A.O.A.C. (fichas citadas), etc. siguen la técnica que emplea el producto de destilación de la muestra.

Otros autores en cambio no encuentran inconveniente en que se trabaje directamente sobre la muestra.

No existiendo pues concordancia de criterios pasaremos a estudiar este punto del problema, considerando en primer término si la destilación previa puede tener o ejercer influencia sobre el tenor en ésteres de la muestra.

Ya hemos descartado, de acuerdo con nuestras observaciones, la influencia del corcho de las uniones.

Por de pronto se podría pensar con Barbet que en el medio ácido de las bebidas el calentamiento y vaporización subsiguiente provocarían formación de ésteres por combinación facilitada de ácido y alcohol al estado de vapor. Este inconveniente probable se cree subsanado por Scott, Barbet, la A.O.A.C., etc. efectuando la dilución previa de la muestra a destilar, en grados diversos. Así es como en muchos casos se exige aproximadamente un agregado de 12,5 ml de agua destilada para diluir 100 ml de muestra; Barbet por su parte exige como condición indispensable el trabajar sobre muestra diluída a 20° alcohólicos como máximo, en cuyo estado, afirma, la esterificación del ácido y el alcohol es poco probable.

Otro problema que se presenta enseguida es el de una probable pérdida de ésteres a producirse durante la destilación, sea: por descomposición de estos compuestos, por la forma en que se recoja el destilado, etc. Por lo que respecta a la posible descomposición durante el calentamiento y vaporización de la destilación, Kayser y Demolón (7) afirman que una destilación directa a presión ordinaria no des ///



//compone los ésteres.

En cuanto a las uniones hemos tratado siempre de asegurar que sean prácticamente herméticas dada la volatilidad de los productos que se destilan, asegurándonos en esta forma contra esta posible causa de error.

En lo que respecta a la forma de recoger el producto de la destilación observamos que ninguno de los antecedentes bibliográficos encontrados hace mención de este punto, que sin embargo, de acuerdo a lo expresado por Gaudrot (Bulletin de L'Association des Chimistes de Sucrierie. n° 25, páginas 992 y 993) quién señala que la exposición al aire de un líquido conteniendo ésteres implica pérdida notable de éstos que calcula en 1/7 por hora del total, debería tener su importancia. Es que, teniendo en cuenta esta afirmación, hemos recogido el producto destilado sobre una probeta graduada, de poco diámetro, de manera de obtener escasa superficie libre de evaporación y cuya boca tiene un diámetro menor aún, pero suficiente para permitir la entrada del tubo fino que sigue al refrigerante. Hemos probado asimismo tapar la boca de la probeta con un corcho provisto de una muy pequeña hendidura lateral, y atravesado por el tubo final del refrigerante, de manera de prevenir o disminuir en lo posible las pérdidas a que se refiere Gaudrot. Asimismo hemos ensayado recoger el líquido destilado teniendo la probeta a temperatura ambiente o bajo agua fría.

En cuanto a las técnicas de destilación hemos ensayado: la destilación de 100 ml de muestra agregándole 12,5 ml de agua destilada y recogiendo 100 ml (esta dilución o muy aproximada proporcionalmente, es la más preconizada); hemos trabajado destilando sin dilución alguna con 110 ml de muestra recogiendo 100 ml (aquí los resultados obtenidos en la saponificación se calculan teniendo en cuenta la cantidad de que se parte); hemos destilado 100 ml de muestra llevados a 20° alcohólicos aproximadamente(24); también hemos ensayado la destilación por arrastre con vapor de agua que fué realizada en la siguiente forma: destilar 100 ml de muestra hasta que queden 10 ml, pasar entonces corriente de vapor de agua (previamente se lleva a ebullición durante

///

//unos minutos a fin de eliminar el anhídrido carbónico que mantiene en disolución) y recoger 150 ml que corresponden a 100 ml de muestra, hecho que tomamos en cuenta al efectuar los cálculos necesarios para medir el álcali gastado en la saponificación de los ésteres.

Hemos adoptado estas cantidades de muestra a destilar, todas vecinas a los 100 ml por cuanto solamente vamos en ellas a determinar ésteres y ya hemos adoptado para las grappas empleadas en nuestros ensayos 50 ml como cantidad necesaria, por lo cual podemos efectuar dos determinaciones, la segunda para ratificar resultados obtenidos en la primera.

Ahora bien, para el caso de un análisis completo, indudablemente, la cantidad a destilar será mayor, ya que en el destilado se determinan normalmente otros compuestos, además de los ésteres: tales serían los alcoholes superiores, los aldehidos, los ácidos volátiles, etc.

Como resultado experimental observamos, que cualquiera sea la técnica empleada, los datos obtenidos son semejantes, ya sea trabajando con las diluciones aconsejadas, llevando la muestra a 20° alcohólicos, recibiendo el producto de la destilación a temperatura ambiente o sobre agua fría, sobre el recipiente abierto o tapado con corcho, efectuando la destilación directa simple de la muestra seguida de arrastre por vapor de agua, etc.

En consecuencia nuestros resultados experimentales no nos indican -por lo menos para el caso de bebidas no coloreadas- la necesidad indispensable de efectuar la determinación de ésteres sobre el producto de la destilación de la muestra, por cuanto los datos comparativos entre la determinación sobre muestra directa o los distintos productos obtenidos por las diferentes técnicas de destilación descriptas son semejantes.

Hay que hacer notar sin embargo que en oportunidad en que trabajáramos sobre muestra coloreada (coloración bastante acentuada), nos fué imposible experimentar con determinaciones directas sobre la mues-

//tra, por molestar ostensiblemente la coloración, en las operaciones de titulación, la observación del viraje del indicador. Este inconveniente subsistió cuando, atendiendo a sugerencias del Sr. Luquín, probamos la dilución hasta el medio con agua destilada o cuando en vía de ensayo tratamos la muestra con carbón animal por agitación y contacto posterior de 24 horas, y filtrado. Este procedimiento no tuvo ninguna eficacia y en cuanto a la dilución solo disminuyó en parte y en forma insuficiente la coloración.

Hasta ahora habíamos empleado como indicador la fenolftaleína en solución alcohólica -se recordará que dejamos el problema del indicador para resolver más adelante-; pues bien, probamos en el caso de la bebida coloreada otros indicadores, entre ellos el tornasol en tintura, con resultados negativos: siempre resulta difícil la observación del momento en que vira el indicador.

Naturalmente que la observación que hicieramos acerca de la no influencia o necesidad de una destilación previa para la determinación de ésteres, tiene valor en cuanto particularmente respecta a la clase de bebida en que estamos trabajando -grappa- generalmente incolora pero pierde su valor como ya lo experimentáramos cuando se trata de una bebida coloreada, en cuyo caso se hace imprescindible la destilación no solo porque el color molesta en las titulaciones al dificultar la observación clara y nítida del viraje del indicador, sino también porque dicho color puede significar añejamiento en toneles de roble u otra madera, implicando en consecuencia presencia de resinas y otros elementos probablemente saponificables, de naturaleza desconocida, que falsearían el resultado al consumir álcali durante la operación.-

Por todo ello, recomendamos la destilación previa a fin de efectuar la determinación de ésteres sobre el producto de la destilación por cuanto, si bien aquella operación no sería prácticamente necesaria para el caso de bebidas incoloras, indudablemente que se gana mucho uniformando el método para las bebidas destiladas en general, sobre todo teniendo en cuenta que en otras determinaciones se traba-

//ja sobre destilado y además que esa operación es necesaria en el caso de bebidas colóreadas. Por la consideración anterior a esta última sería el caso de destilar una cantidad mayor y nada más. Además siempre resulta más conveniente, tratándose de líquidos cuya complejidad de composición es manifiesta, trabajar sobre el producto destilado, evidentemente más puro que la muestra en sí.

Visto que las técnicas de destilación empleadas dieron en todos los casos resultados concordantes, hecho que elimina diferencias, nos inclinamos de acuerdo con nuestras observaciones prácticas por la destilación de 100 ml de muestra diluída con 12,5 ml de agua destilada, o sea diluída en la proporción que exigen muchos tratadistas: se recogen 100 ml.

El tiempo mínimo de destilación fué de 1 hora 30 minutos y el máximo de 3 horas, para las diferentes técnicas ensayadas, siendo la aconsejada una de las que más se acerca al tiempo mínimo de destilación.-

Con respecto a la forma de destilación se hizo por elevación gradual de la temperatura, de manera de regular el paso lento pero constante de las sustancias volátiles, evitando los pasos bruscos, sobre todo al comenzar la destilación.

No habiéndose determinado diferencias en la forma de recoger el destilado, resultando en consecuencia imposible de obtener conclusiones en uno u otro sentido, consideramos que se puede recoger directamente a la temperatura ambiente en probeta graduada, sin tapón, pero con boca angosta, de poco diámetro, como medida preventiva únicamente sin que ésto implique prácticamente pérdida sensible de ésteres, pero que el recoger sobre agua fría sería una precaución no exenta de valor.-

Un detalle casi sin importancia que también hemos experimentado es el referente a la forma de regularizar más la ebullición. Hasta ahora habíamos empleado piedra pómez; pues bien, probamos las perlas de vidrio en algunas determinaciones, llegando prácticamente a la conclusión que se debe insistir en el empleo de la primera, lo que

///facilita enormemente los ensayos.-

## CONCLUSION PRACTICA PARCIAL N° 6.-

## Considerando:

que existen dificultades de orden práctico para trabajar directamente sobre muestra cuando es coloreada;

que la coloración puede indicar añejamiento en toneles de roble u otra madera lo que implicaría presencia de resinas y otros compuestos que podrían falsear los resultados;

que el empleo del producto de destilación de la muestra ya está indicado para otras determinaciones; y,

que los resultados obtenidos en nuestros ensayos no se modifican trabajando sobre muestra o sobre el producto de la destilación;

**ESTIMAMOS:** como indicación primordial trabajar siempre en la determinación de ésteres con el producto de destilación de la muestra, obtenido previa dilución del volumen de aquélla con 1/8 de agua destilada, debiéndose recoger sobre probeta graduada, de poco diámetro y boca angosta, colocada en baño de agua.-

## RESULTADOS ANALITICOS

Tabla n° 6.

Grado alcohólico: 53°

<u>Destilando</u>	<u>Recogiendo</u>	<u>ml NaOH 0,1 n</u>		
		<u>gastado para 50 ml</u>	<u>calculado para 1,000 ml</u>	
100 ml muestra más 12,5 ml de agua destilada.	sin tapar	temperatura ambiente	3,2 3,1 3,2	64 62 64
		sobre agua fría	3,2 3,2 3,2	64 64 64
			tapando con corcho	temperatura ambiente
	sobre agua fría	3,0 3,2 3,1		60 64 62
		sin tapar		temperatura ambiente
	sobre agua fría		3,1 3,2 3,1	62 64 62
110 ml de muestra sin diluir.			tapando con corcho	temperatura ambiente
	sobre agua fría	3,1 3,3 3,1		62 66 62
	sin tapar	temperatura ambiente	3,2 3,1 3,1	64 62 62
		sobre agua fría	3,1 3,1 3,1	62 62 62
sin tapar			temperatura ambiente	3,1 3,2 3,0 3,2
	tapando con corcho blindado c/papel estaño	temperatura ambiente	3,0 3,2 3,2 3,1	60 64 64 62
		<u>MUESTRA DIRECTA</u>		3,1 3,1 3,2

Valor medio, muestra directa: 62,66  
 Valor medio, muestra destil.: 62,81

Diferencia: 0,15

### Forma de calentamiento para obtener la ebullición.-

Vamos a estudiar ahora un problema que consideramos interesante y es la forma de calentamiento de la muestra con el exceso de solución alcalina para obtener la saponificación de los ésteres por ebullición.

A este respecto debemos destacar que en la mayor parte de la bibliografía consultada no se hace referencia a la forma en que se debe efectuar el calentamiento para obtener la ebullición, concretándose todos los métodos a expresar: "...calentar a ebullición..." Existen sin embargo tres excepciones: Kaysèr y Demolón (7) en efecto aclaran la forma en que debe calentarse, expresando que debe hacerse a baño-maría hirviente con lo que, además, evitan toda ebullición tumultuosa; por su parte Taveira y Alves Filho (28) hacen la expresa indicación, que en la saponificación, el calentamiento debe realizarse a baño-maría, aunque sin especificar los motivos; asimismo Tobie (ficha citada) al detallar su proposición de método manifiesta que la bebida con el álcali en exceso debe ser calentada durante una hora en baño de agua a una temperatura que oscile entre los 60° y 78° C. haciendo la advertencia de que dicho calentamiento debe hacerse haciendo rotar el aparato de cuando en cuando.

Estos antecedentes nos llevaron a efectuar varias determinaciones que nos servirían para establecer, en el caso de que no se encontraran diferencias en los resultados, la diferente practicidad de los mismos. Aprovechamos además estas experiencias para relacionarlas con otro factor directamente ligado al problema que estamos tratando y es el referente al tiempo de ebullición que ya hemos considerado con anterioridad, aunque dejándolo pendiente de una resolución definitiva hasta esta oportunidad.

Los ensayos practicados fueron realizados con el producto de la destilación de la muestra (grappa) utilizando el aparato de saponificación con unión esmerilada y en todo de acuerdo a las conclusiones obtenidas hasta este momento. El calentamiento directo se efectuó con vigilancia constante y con elevación gradual de temperatura hasta ob-



//tener una ebullición bastante regular; el calentamiento a baño-maría no necesita en cambio vigilancia ninguna pues la ebullición es muy regular por cuanto la fuente de calor (vapor de agua) no varía en su temperatura.

A los efectos de realizar paralelamente estudios comparativos sobre la influencia del tiempo de ebullición, variamos éste, dándole distintas duraciones: 10 minutos, media hora, una hora y una hora y media.

Los resultados analíticos que figuran en el cuadro nos confirman, si nos referimos al calentamiento directo con mechero y usando tela metálica, los resultados obtenidos en experiencias anteriores en cuanto al criterio de que aumenta el gasto de álcali al aumentar el tiempo de ebullición, hecho que atribuimos a la oxidación del alcohol y de los aldehidos con producción de ácidos, lo que implica un gasto de álcali,

En cambio, efectuando el calentamiento a baño-maría hirviente, obtenemos resultados concordantes cuando se ha hecho variar el tiempo de ebullición entre media hora y una hora y media, hecho que nos está demostrando que en esas condiciones la oxidación del alcohol y de los aldehidos es pequeña o mejor dicho prácticamente nula (ya que debemos aceptar que se produce en proporción talvez ínfima) criterio que se afirma en el hecho de la poca variabilidad de los resultados -nos referimos a su aumento o disminución- al variar el tiempo de ebullición.

Observamos asimismo que los datos obtenidos por calentamiento directo con ebullición de media hora, o por baño-maría en tiempos variables de ebullición, son bastante semejantes lo que viene a ratificar el criterio que adoptáramos cuando empleamos el calentamiento directo exclusivamente.

Indudablemente que la ebullición por acción del calentamiento a baño-maría tiene sus beneficios: por de pronto no necesita vigilancia del operador por cuanto la masa líquida permanece en ebullición regular sin otro control necesario que el del tiempo de duración de

//la operación; éllo constituye una gran ventaja; el tiempo necesario para llegar a la ebullición es menor por cuanto se llega a esa regularidad característica sin necesidad del cuidado que exige el calentamiento directo que como ya dijimos nos lleva un tiempo previo de 20 minutos aproximadamente para la ebullición regular, no tumultuosa; por otra parte no se producen recalentamientos porque toda la masa está en igualdad de condiciones con respecto a la temperatura, lo que no sucede con el mechero en el que además debemos considerar que su poder calórico depende de varios factores: fuerza y composición del gas, regulación de la llama, desviación de ésta por corrientes de aire, etc.

Con respecto al tiempo que debe durar la ebullición y no habiendo obtenido tampoco en esta oportunidad resultados concordantes al mantener la ebullición nada más que diez minutos, fijamos el mismo en media hora, que de acuerdo a nuestras experiencias resulta suficiente, no viendo la necesidad de que el mismo se prolongue por un tiempo mayor cuando los resultados obtenidos en este caso son iguales.

Debo dejar constancia que en estas determinaciones hemos procedido tratando de corregir un probable factor de error que consistía en el hecho de no lavar el refrigerante antes de retirar el balón donde se efectuó la saponificación y en el que podían quedar productos volátiles condensados, ya que trabajamos con refrigerante a bolas. Paralelamente a las determinaciones que mencionamos anteriormente controlamos los resultados en casos lavando o nó el refrigerante con agua destilada previamente hervida y prácticamente neutra. Aún cuando no fueron halladas diferencias en ambos procedimientos, estimo que es una prudente medida que no está demás adoptar.-

CONCLUSION PRACTICA PARCIAL N° 7.-

El empleo del baño-maría para obtener la ebullición nos ha proporcionado apreciables ventajas: no exige vigilancia constante, acorta el tiempo de la operación pues se obtiene con bastante rapidez una ebullición regular, y el calentamiento es uniforme en toda la masa.

Teniendo en cuenta éstos factores y el hecho de que los resultados experimentales obtenidos nos indican que, coincidiendo con experiencias anteriores, el tiempo mínimo necesario de ebullición es de media hora -un tiempo mayor no modifica en forma apreciable los datos pero uno menor los dá irregulares y comparativamente más bajos- fijan en dicho tiempo la duración de la ebullición, que deberá ser obtenida por baño-maría hirviente.

En otro aspecto del problema juzgamos asimismo prudente medida lavar el refrigerante con agua destilada hervida, antes de retirar el balón cuando la saponificación se ha producido por cuanto pueden quedar en aquél, condensados, productos volatilizados durante la ebullición.-

## R E S U L T A D O S   A N A L I T I C O S

Tabla n° 7.-

Grado alcohólico: 55°

Tiempo de ebullición en minutos	forma de ca- lentamiento.			
	directo		baño-maría	
	sin lavar	lavando	sin lavar	lavando
10	-	-	2,2	3,0
10	-	-	2,4	2,0
10	-	-	3,0 (a)	2,7
10	-	-	2,1	1,95
10	-	-	3,0	2,4
			<u>v.m.: 2,54</u>	<u>v.m.: 2,41</u>
30	2,6	-	2,7	2,6
30	2,6	2,6	2,6	2,6
30	2,65	2,5	2,6	2,55
	<u>v.m.: 2,62</u>	<u>v.m.: 2,55</u>	<u>v.m.: 2,63</u>	<u>v.m.: 2,58</u>
			(1)	(1)
60	2,8	2,7	2,6	2,6
60	2,75	-	2,65	2,6
60	3,0	2,8	2,6	2,6
	<u>v.m.: 2,85</u>	<u>v.m.: 2,75</u>	<u>v.m.: 2,62</u>	<u>v.m.: 2,60</u>
			(2)	(2)
90	3,0	-	2,6	2,9 (b)
90	2,9	3,1	2,6	2,6
90	2,95	2,9	-	2,6
	<u>v.m.: 2,95</u>	<u>v.m.: 3,0</u>	<u>v.m.: 2,60</u>	
			(3)	

(a) Sorprende esta variación de resultados altos o bajos.

(b) Se repitió esta determinación pensando en un resultado anormal obteniéndose los datos: 2,6 - 2,65 - 2,6 los que dan un valor medio de: 2,62 (3)

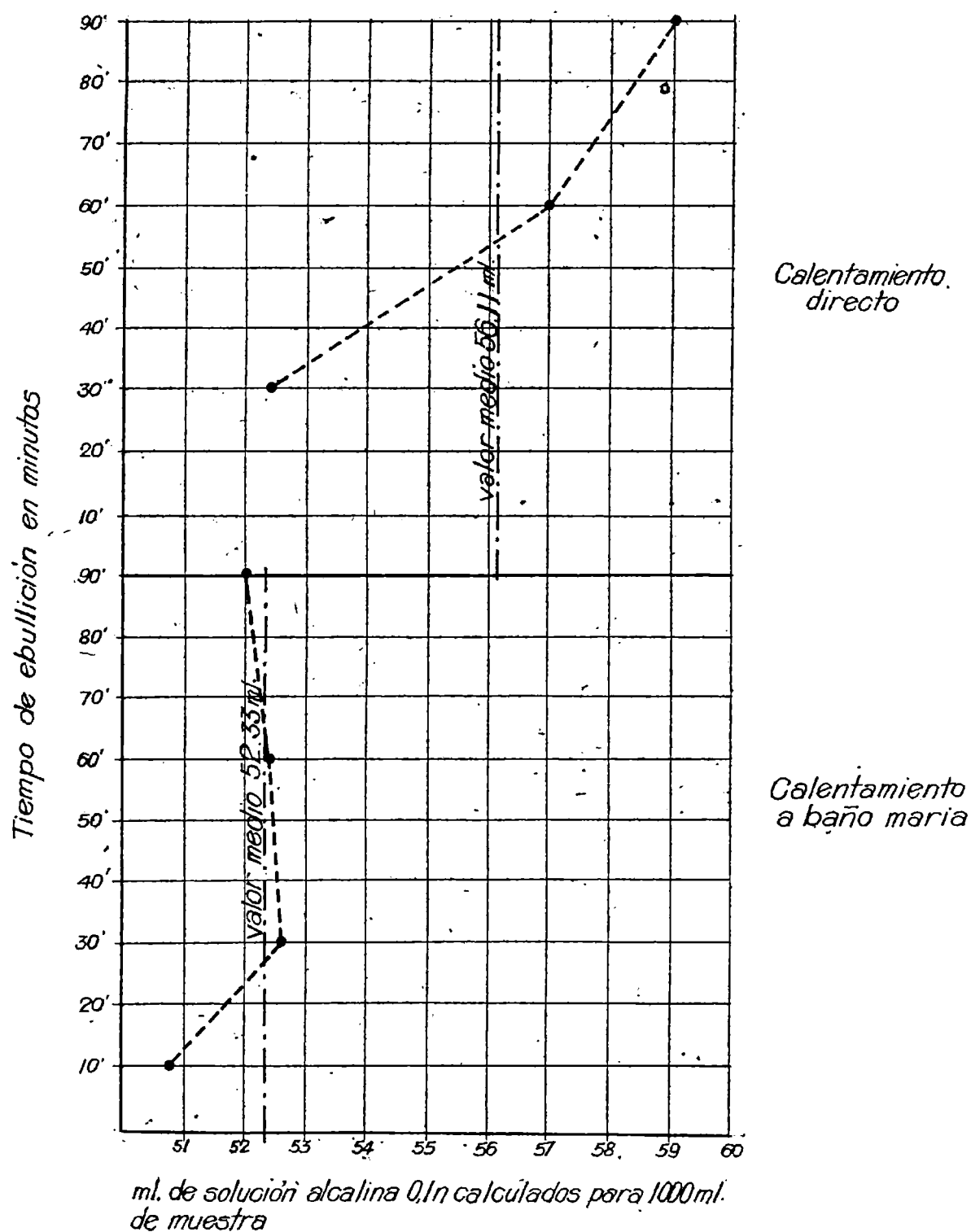
$$\frac{(1) \text{ más } (1)}{2} = 2,60$$

$$\frac{(2) \text{ más } (2)}{2} = 2,61$$

$$\frac{(3) \text{ más } (3)}{2} = 2,61$$

Resultados expresados en mililitros de NaOH 0,1n gastados en la saponificación de 50 ml de destilado.-

Gráfico demostrativo de las variaciones observadas en la saponificación de los ésteres trabajando con diferentes tiempos de ebullición y formas de calentamiento.



### Volumen del balón - distintos refrigerantes.-

Dados los antecedentes bibliográficos hallados que se refieren a la probable oxidación del alcohol - y los aldehidos - durante el calentamiento de la muestra, oxidación que se atribuye al contacto de los vapores con el oxígeno del aire, hemos realizado algunas experiencias tendientes a aclarar este punto, ya se trate de la saponificación o de la destilación previa a quélla, para lo cual consideramos factor importante el volumen del balón, es decir, el mayor o menor volumen de aire en contacto con los vapores de la destilación o de la ebullición durante la saponificación.

Con miras a resolver este problema, de la probable oxidación de los aldehidos, alcohol, etc. en estado de vapor, algunos autores han tratado de evitarla aconsejando practicar la operación sobre vacío. Así tenemos que Duchemin y Dourlen en el año 1905 (24) ya hablan de la necesidad de trabajar operando en balón donde previamente se hubiera hecho el vacío; por su parte Barbet acepta este criterio de Duchemin y Dourlen, pero proponiendo un pequeño cambio en el dispositivo para obtener el vacío, con el fin de facilitar la manipulación y con el cual se obtiene una atmósfera de alcohol, con lo que resuelve el temido problema de la oxidación.

Aceptamos esta oxidación pero no la consideramos tan importante como para justificar una complicación del método, como sería el hacer el vacío, no solo en la operación de saponificación sino también durante la destilación previa; por lo que solo la estudiaremos en lo que respecta al menor o mayor volumen de aire en contacto con los vapores.

A este respecto Kayser y Demolón (7) recomiendan especialmente para la saponificación el empleo de un balón pequeño -sin especificar capacidad- a los efectos de evitar en lo posible la oxidación por contacto con gran volumen de aire; ahora bien, al leer los distintos métodos propuestos hallados en la búsqueda bibliográfica nos encontramos con escasos procedimientos en los que se cite el detalle del volumen del balón a emplearse; así vemos que en el Método Oficial Francés

///(26) se habla de un balón de 250 ml para 100 ml de muestra, mientras que Taveira y Alves Filho (28) emplean un balón de la misma capacidad para 50 ml de muestra.

Dado que nosotros hemos ya fijado la cantidad de muestra en 50 ml efectuamos determinaciones haciendo variar el volumen del balón de saponificación y paralelamente midiendo la probable influencia del tipo de refrigerante en su acción de condensación de productos, algunos tan volátiles.

También hemos considerado el problema de la destilación en cuanto respecta a la posible influencia en los resultados de la capacidad del balón respectivo, y a este respecto hemos hecho variar su capacidad; aquí tampoco efectuamos la destilación en vacío como preconiza algún autor a los efectos de evitar toda oxidación por contacto con el aire, por considerar, como ya lo hicimos anteriormente, que estamos buscando un método práctico y de fácil y simple realización.

Por lo que respecta a la naturaleza del vidrio de que está construido el balón dejamos constancia -como ya lo hicimos con anterioridad- que hemos empleado balones de vidrio duro, Pirex, prácticamente inatacables por las soluciones alcalinas.

Como resultado experimental tenemos que no se observan diferencias notorias cuando se trabaja en la saponificación con balones de 1,000 - 500 o 250 ml, con cuyos hechos podemos concluir que en realidad el volumen del aire en contacto con los vapores tiene una influencia -de existir- muy pequeña y que no afecta en mucho los resultados. Ahora bien, indudablemente resulta incómodo y molesto trabajar con un balón de una capacidad de 1,000 ml empleando 50 ml de muestra.

Con respecto a los distintos tipos de refrigerante empleados, observamos que cuando usamos un tubo de aproximadamente 75 mm de largo y 6 mm de diámetro que es preconizado por Tobie(trabajo citado) y Comenge (27), nos encontramos con resultados algo por debajo de los obtenidos con refrigerante con camisa donde circula agua(recto o a bolas, que dan resultados semejantes) lo que nos indicaría ///

//una condensación insuficiente de los productos volátiles de la muestra (de acuerdo al resultado se trataría de un predominio de productos ácidos o ésteres) cuya pérdida incidiría desfavorablemente en los resultados.

Como consecuencia de élllo, aconsejamos a los efectos de una mejor condensación de los vapores por su mayor superficie de enfriamiento al refrigerante a bolas.

Con respecto al problema de la oxidación del alcohol durante el proceso de destilación de la muestra, que ya descartamos en experiencias anteriores, debemos manifestar no obstante que también efectuamos en esta oportunidad ensayos haciendo variar la capacidad del balón de destilación, sobre todo teniendo en cuenta que la oxidación con formación de ácidos puede producir asimismo una esterificación de éstos con el alcohol en estado de vapor.

En estos ensayos no obtuvimos diferencias, sinó por el contrario, resultados bastante concordantes en la determinación de ésteres efectuada sobre los diferentes productos de destilación recogidos.-



## CONCLUSION PARCIAL PRACTICA N° 8.-

Descartada prácticamente una mayor oxidación del alcohol por presencia de una mayor cantidad de aire en la saponificación como así también todo fenómeno de esterificación en la destilación; y constatada una mayor eficacia en la acción de condensación del refrigerante a bolas sobre los demás sistemas ensayados para la operación de saponificación, adoptamos, teniendo en cuenta un punto de vista práctico, un balón de 250 o 500 ml para la saponificación y de 500 ml para la destilación, así como un refrigerante a bolas para el primer caso y uno recto -unido al balón por tubo acodado (uniones esmeriladas)- para el segundo.-

## R E S U L T A D O S    A N A L I T I C O S

Tabla n° 8.-

Grado alcohólico: 53°

Aparato de saponificación

<u>volumen del balón</u>	tubo de 75 cm de largo y 6 mm de diámetro	<u>refrigerante</u>	
		recto	a bolas
ml			
1,000	-	2,25	2,3
	2,15	2,3	2,3
	2,20	2,25	2,25
500	2,3	2,3	2,3
	2,0	2,3	2,25
	2,3	2,3	2,3
250	2,2	2,2	2,3
	1,9	2,3	2,35
	2,3	2,3	2,3

Resultados expresados en ml de NaOH 0,1 n gastados en la saponificación de los ésteres de 50 ml de destilado.

## RESULTADOS ANALITICOS

Tabla n° 9.-

Grado alcohólico: 53°

Aparato de destilación

Volumen del balón ml	ml de NaOH 0,1 n gastados en saponificación de ésteres contenidos en 50 ml de destilado.	ml de NaOH 0,1 n calculados para la saponificación de ésteres de 1,000 ml
1,000	8,90	178,0
	8,85	177,0
	8,95	179,0
	8,90	178,0
		<u>valor medio: 178,00</u>
500	8,95	179,0
	8,90	178,0
	8,90	179,0
	8,85	177,0
		<u>valor medio: 178,25</u>
250	9,00	180,0
	8,95	179,0
	8,90	178,0
	8,85	177,0
		<u>valor medio: 178,50</u>

Indicador.-

Ya tratamos el problema de los indicadores al referirnos a la titulación de la acidez en cuya circunstancia, luego de breves consideraciones, llegamos a la conclusión en que no existía inconveniente para realizar aquélla operación con los indicadores que mencionáramos entonces y que son: la fenolftaleína, el rojo de cresol, el rojo de fenol, el azul de bromo timol y el rojo de bromo cresol, todos en soluciones alcohólicas, siempre naturalmente que al expresar los resultados se dejara constancia del indicador empleado por existir entre los mismos algunas diferencias que aunque de pequeño tenor, no son despreciables.

Ahora bien, aquí se nos plantea el problema del indicador a emplear ya sea en la titulación de acidez como en la saponificación (indudablemente debe usarse el mismo) que implica un calentamiento a ebullición de media hora y que puede tener alguna acción sobre el indicador.

Para solucionarlo, hemos usado en varios ensayos los indicadores mencionados, por lo que haremos a continuación una breve consideración sobre el resultado de nuestras observaciones.

Fenolftaleína. pH: 8,0 - 9,0.-

Empleando este indicador llevamos a rosado persistente término medio durante un minuto. El viraje a rosado es neto y se observa perfectamente bien cuando la cantidad de indicador es de 5 gotas de la solución, para 50 ml de muestra a titular. Da un dato de acidez algo más elevado que los otros indicadores. El calentamiento a ebullición no lo modifica, y la titulación del exceso de álcali se efectúa por retorno llevando a rosado persistente como en la titulación o neutralización de acidez. No encontramos pues ningún inconveniente en su empleo salvo el que se refiere a que dá la acidez carbónica pero de cualquier manera esta acidez se neutraliza antes de la determinación de ésteres.

Rojo cresol. pH: 7,2 - 8,8.-

////

///Lo preparamos en solución alcohólica al 0,2 por mil. Presenta un viraje bastante neto, y que se observa perfectamente, del amarillo limón muy suave(en medio ácido) al violeta pálido (en medio alcalino). Hemos comprobado que agregando 10 gotas de este indicador para 50 ml de muestra las coloraciones se hacen muy nítidas, observándose mucho mejor el cambio de color que cuando se agregan solamente 5 gotas para el mismo volumen de líquido.

Al efectuar la saponificación se observa que la coloración disminuye algo en intensidad pero esta disminución es poca y nos permite efectuar perfectamente la titulación.

Conviene efectuar esta operación por retorno porque se observa más fácilmente y mejor el color violáceo.-

Rojo fenol. pH: 6,8 - 8,4.-

En medio ácido dá un suave color amarillo limón que vira al violeta obispo muy claro en medio alcalino.El viraje del indicador es fácilmente observable.

Ahora bien, con respecto al empleo de este indicador, debemos observar que luego del calentamiento necesario para la saponificación el color violeta del medio alcalino pierde en forma notable su intensidad, llegando a un rosado violáceo, aún cuando en la solución exista siempre un exceso de álcali. Esto nos obliga a efectuar la titulación directa del álcali consumido en la saponificación; entendemos que se trata de una probable descomposición, por lo que lo desecharmos.

Para este indicador resultan suficientes 10 gotas para 50 ml de muestra, encontrándose relativos inconvenientes en trabajar con 5 gotas en aquel volumen, por el hecho de que la dilución disminuye la intensidad de coloración impidiendo una observación buena.

Azul de bromo timol. pH: 6,0 - 7,6

Dá en medio ácido una coloración amarilla levemente verdosa(es el color de un aceite comestible, pero muy claro) y en medio alcalino un hermoso color azul celeste.

Debe hacerse notar sin embargo, que se ha observado lo siguiente:

///

//que de este indicador deben agregarse 15 gotas en 50 ml de muestra, que es la proporción en que se hacen mejor las observaciones de viraje; y que en medio ácido se obtiene así un color amarillo limón; ahora bien, al ir agregando la solución alcalina para la titulación, llega un momento en que aparece una coloración verde que es fugaz pero que al agregar más álcali se convierte en persistente; si a este líquido de coloración verde agregamos más álcali pasa enseguida al azul celeste persistente, lo que nos indica que estamos en medio alcalino.

En mis trabajos experimentales, he obtenido siempre datos más concordantes llevando siempre a esa coloración azul celeste (en esta cuestión entiendo que debe tener suma importancia el factor personal y los probables defectos de la visión) por cuanto me ha resultado difícil determinar exactamente la coloración verde por aparecer primero unas coloraciones intermedias -también verdosas- que me hacían difícil la determinación de un punto exacto de neutralidad.

La titulación por retorno se hace perfectamente en estas condiciones, y no hay disminución de la intensidad ni cambios en la coloración luego del calentamiento saponificante.

He expresado la necesidad de trabajar con 15 gotas pues con 10 he hallado particularmente más difícil, observar los virajes por la dilución del indicador.

La aparición del color verdoso por otra parte me ha servido como guía para la titulación, por la proximidad con la coloración final permanente.

#### Rojo de bromo cresol. pH: 5,2 - 6,8

En medio ácido fuerte tiene coloración amarilla, que en medio alcalino pasa al violeta sin transiciones, empleando soluciones ácidas y alcalinas 0,1 n. Este hecho nos hizo pensar en que dado su rápido viraje, sin transiciones, sería el mejor para aplicar en la alcalimetría que debemos efectuar para determinar los ésteres. Pero al efectuar la práctica en la bebida, que tiene acidez orgánica, observamos que su viraje no es tan neto, aún cuando empleamos en la

////

//titulación de acidez la misma solución alcalina 0,1 n. En efecto, observamos que si bien primero el color es amarillo igual que con la acidez sulfúrica, en cambio no se produce el viraje en forma neta al violáceo, sino que lo hace, primero aumentando la intensidad de coloración amarilla limón y luego pasa por el verde oliva que es el punto neutro, ya que un nuevo agregado de álcali nos conduce a la aparición de la coloración violácea, que es permanente.

Prácticamente nos ha resultado eficiente llevar a color violeta persistente a los efectos de estudiar la acidez, por cuanto este indicador, como ya lo hemos expresado, da varias tonalidades de verde; me resultó difícil determinar el punto neutro, por cuanto al aparecer por ejemplo dicha coloración y cuando creía estar en la neutralidad, si agregaba una gota más de álcali 0,1 n me encontraba aún en el mismo color verde pero más acentuado, más oscuro, lo que constituía un grave inconveniente.

Con este indicador pasa lo mismo que con los anteriores, en que observamos que es necesario un número mayor de gotas que la fenolftaleína para tener virajes perfectamente observables. Repito, aquí debe tener gran influencia el factor personal.

En el presente caso fueron necesarias 10 gotas de su solución alcohólica para 50 ml de muestra.

Otro inconveniente de este indicador se observa luego del calentamiento necesario para la saponificación de los ésteres, en cuya circunstancia toma un color violáceo sucio; si titulamos directamente vira al amarillo, pero pasando primero por tonalidades parduzcas; en este caso la titulación resulta dudosa. Si efectuamos la operación por retorno se tienen los mismos inconvenientes ya que el paso de los colores pardos al violáceo es también confuso.-

## CONCLUSION PRACTICA PARCIAL N° 9.-

De acuerdo a las observaciones realizadas concluimos que a excepción del rojo fenol y el rojo de bromo cresol que presentan algunos inconvenientes, puede emplearse cualquiera de los indicadores ensayados con la expresa condición que debe mencionarse siempre el utilizado; ahora bien, como entiendo que conviene decidirse por alguno, lo hago por el azul de bromo timol que para mi agudeza visual me ha resultado el más práctico.



Grado alcohólico.-

Meditando en nuestras experiencias anteriores y en los antecedentes hallados en nuestra búsqueda, hemos considerado como un problema digno de estudio la investigación de la influencia que puede tener en la determinación de ésteres el grado alcohólico de la muestra en la que vamos a efectuar los ensayos.

Ya, cuando tratamos la cuestión de la cantidad de muestra a utilizar, expusimos el pensamiento de que, como los datos obtenidos eran más altos cuando mayor era la cantidad de bebida que empleábamos para nuestros ensayos, debíamos o podíamos atribuir ese aumento en el valor del álcali gastado a una oxidación del alcohol y consiguiente transformación en ácido, hecho que implicaría un mayor gasto de álcali para la neutralización del ácido formado; de ahí el dato mayor obtenido al aumentar la cantidad de muestra.

Al considerar asimismo de si era necesario trabajar sobre el producto destilado, aceptamos también una oxidación del alcohol dado el calentamiento necesario para la destilación, aunque en esa circunstancia no lo probamos ya que solamente nos interesaba el problema de una probable esterificación del alcohol y ácido durante la destilación, por cuanto cualquier formación de acidez debía ser neutralizada antes de la saponificación.

También cuando estudiamos las ventajas del calentamiento a ebullición por acción del baño-maría hirviente con respecto al calentamiento directo, hicimos una observación experimental interesante y es la de que en aquel caso no se produce variación en los resultados obtenidos aún cuando se varíe el tiempo durante el cual la muestra permanece en ebullición, por lo que concluimos en aquella oportunidad que en esas condiciones no se producía oxidación -o se producía en cantidades muy pequeñas- y atribuimos este hecho a la regularidad de la ebullición, a la ausencia de recalentamientos, etc.

Pero estos datos que menciono se refieren en cada caso a una misma muestra de bebida, vale decir, a muestras cuyo grado alcohólico

////

///no ha variado, variando en cambio la cantidad de alcohol al variar la cantidad de muestra.-

Por élllo pensando en la probable oxidación, decidimos efectuar ensayos con muestras de diferentes graduaciones alcohólicas obtenidas por agregado de alcohol de 95° o de agua destilada a una misma bebida, permaneciendo en consecuencia, los ésteres constantes.

Los antecedentes bibliográficos nos hablan de oxidación del alcohol. Vemos así que en un trabajo de Barbet (24) se expresa que en notas remitidas a la Academia de Ciencias de París, Duchemin y Dourlen señalan como causa de error en la determinación de ésteres el paso del alcohol a ácido siempre que se hierva en contacto con el aire (se refiere al alcohol etílico); fenómeno que estaría facilitado por "la naturaleza del vidrio, por la presencia de tornillos metálicos y por el exceso de álcali que saturaría el ácido formado".

Llama asimismo la atención la recomendación que recalcan especialmente algunos autores: Taveira y Alves Filho (28), Loprinze y Lecog (33), Post y Neumann (30), Rocqués (32), etc. de que para la saponificación debe trabajarse en muestra llevada a 50° alcohólicos, a cuyo efecto Rocqués proporciona tablas de dilución con agua destilada si la muestra tiene mayor grado alcohólico e inversamente de concentración con alcohol de 95° si es más diluída.

Barbet(ficha citada) por su parte dice que nunca se debe trabajar a un grado alcohólico mayor de 50° pero es necesario aclarar que exige esta condición por cuanto trabaja con tintura de tornasol, indicador cuya relativa insolubilidad en líquidos fuertemente alcohólicos impediría, dice, una buena observación del viraje.

En virtud de todos estos antecedentes realizamos determinaciones de ésteres en una misma grappa cuyo grado alcohólico era de 51° efectuando las diluciones necesarias con agua destilada hervida o el aumento de la riqueza alcohólica con alcohol de 95°.-

Ahora bien, como deseábamos medir nada más que la influencia del grado alcohólico en la determinación de ésteres y como el alcohol empleado en la concentración o elevación del grado alcohólico dió

///

//reacción positiva con el reactivo de Schiff, lo que implicaría variación en la cantidad de aldehidos de la muestra que se produciría al agregar el alcohol, efectuamos para eliminar este factor de error un tratamiento de aquél por el procedimiento de desaldehidización empleado con resultado satisfactorio por el Dr. Moirano ( 5 ) según el cual queda en el alcohol tratado un contenido en aldehidos de 0,0013 g por mil, vale decir, una cantidad prácticamente sin importancia desde el punto de vista de nuestras experiencias.

El método empleado fué el siguiente: en un balón, con unión esmerilada a un refrigerante ascendente, se calienta a ebullición durante media hora 100 ml de alcohol con 10 g de clorhidrato de meta-fenilendiamina. El calentamiento se efectuó en baño-maría, a ebullición ossea a 100° C. Se dejó enfriar y se filtró; a la solución que se volvió al balón, se agrega fosfato de anilina a razón de 1 % y se vuelve a calentar durante media hora a ebullición en las mismas condiciones que las citadas anteriormente. Luego se destiló, a presión reducida, con trompa de agua, calentando en baño-maría a 50° C.

Con el objeto de observar si el alcohol resultante de este tratamiento contiene ésteres como asimismo para ver si se produce alguna oxidación durante la saponificación, efectuamos con la muestra desaldehidizada determinaciones de ésteres llevándola a 50° alcohólicos por dilución conveniente con agua destilada hervida.

Los resultados obtenidos nos conducen a afirmar que el alcohol empleado no contiene ésteres, ni se oxida en las condiciones experimentales mencionadas, por lo menos en proporción valorable según nuestro método operatorio.

El aparato empleado para nuestros ensayos conducentes a probar la existencia o nó de una modificación del resultado de la saponificación según fuere el grado alcohólico de la muestra, fué el empleado en nuestras últimas determinaciones: balón Pirex de 500 ml y refrigerante ascendente a bolas; la parte final del tubo de éste fué ensanchada y esmerilada de manera de formar un cierre perfecto con la boca del balón que también se hizo esmerilar.

///

//Colocamos en el balón 50 ml de muestra y fuimos variando su grado alcohólico por dilución con agua destilada hervida o por agregado de diferentes cantidades del alcohol a cuyo tratamiento desaldehydizante nos refiriéramos previamente. Neutralizada la acidez empleando azul de bromo timol como indicador e hidróxido de sodio 0,1 n, agregamos un exceso de 5 ml de esta solución alcalina (cantidad que es aproximadamente tres veces mayor al álcali necesario para saponificar y cuya determinaciónn aproximada se hizo previamente) y calentamos en baño-maría, a ebullición, durante media hora. Dejamos enfriar, agregamos 5 ml de ácido 0,1 n y titulamos el exceso de ácido, que corresponde al álcali gastado en la saponificación de ésteres, con NaOH 0,1 n.

Los resultados de los ensayos figuran en la tabla n° 10.-

Se observa en élla la forma y extensión en que hemos trabajado es decir la variación del grado alcohólico entre un límite de 20° mínimo y uno máximo de 80°.

Vemos en el resultado de nuestros ensayos que cuando el grado alcohólico es de 50° o menor, cualquiera que sea su proporción, los datos de ésteres son absolutamente concordantes; pero que cuando pasamos esa concentración comienzan a aumentar para hacerse francamente mayores cuando llegamos a líquidos con 80° alcohólicos.

Ahora bien, como al efectuar la dilución o concentración del grado alcohólico se hace necesario variar el volumen del líquido en el que efectuamos la saponificación (ya dijimos que realizamos aquellas operaciones estando la muestra ya en el balón) nos formulamos la siguiente pregunta, de acuerdo con nuestras primeras experiencias, si en ese aumento de los resultados no tendrá influencia otro factor, además del grado alcohólico: nos referimos al factor cantidad de muestra, que como ya dijimos, variaba los resultados.

Para aclarar esta pregunta nos fué entonces necesario realizar ensayos con el mismo procedimiento empleado para ver el factor grado alcohólico, llegando en esta oportunidad a una nueva conclusión con respecto a la cantidad de muestra; y es que no existe práctica-

////

//mente tal influencia como lo afirmáramos anteriormente. Este error cometido entonces no deja de sorprendernos por cuanto debemos pensar en las condiciones en que efectuamos tales determinaciones, en las cuales se manifestaría sin duda alguna la acción de los vapores alcohólicos sobre el corcho; determinaciones que efectuamos calentando a la llama del mechero con todos sus inconvenientes; determinaciones donde la cantidad de álcali no llenaba las condiciones que exigimos ahora. Además observamos en aquéllos resultados que comparando ambas tablas se observa que la diferencia en la bebida de 58° es mucho más acentuada que en la bebida de 52° alcohólicos, hecho que ahora tenemos presente como lógico.

## CONCLUSION PRACTICA PARCIAL N° 10.-

La oxidación del alcohol producida por la ebullición y favorecida por el exceso de solución alcalina que neutraliza la acidez resultante de aquélla -de que nos habla la bibliografía- ha sido probada en nuestros ensayos cuando la muestra posee una riqueza alcohólica mayor de 50° siendo muy acentuada cuando trabajamos con muestra llevada a 80°.

Ello nos hace fijar en 50° el límite máximo para la graduación alcohólica de la bebida en la que debemos determinar ésteres; si ésta tiene mayor riqueza alcohólica debe ser diluida hasta alcanzar aquel valor.

A esta altura de nuestro trabajo debemos rectificar el concepto vertido en la conclusión práctica parcial n° 1, pues hemos probado ahora, en condiciones experimentales evidentemente mejoradas, que la cantidad de muestra no tiene influencia apreciable en los resultados del proceso de saponificación; no obstante, creemos necesario fijar una cantidad de muestra -creencia a que nos ha conducido la repetida práctica- que estimamos en 50 ml, la que podrá elevarse a 100 ml con el objeto de facilitar la tarea cuando el contenido en ésteres sea muy pequeño.-

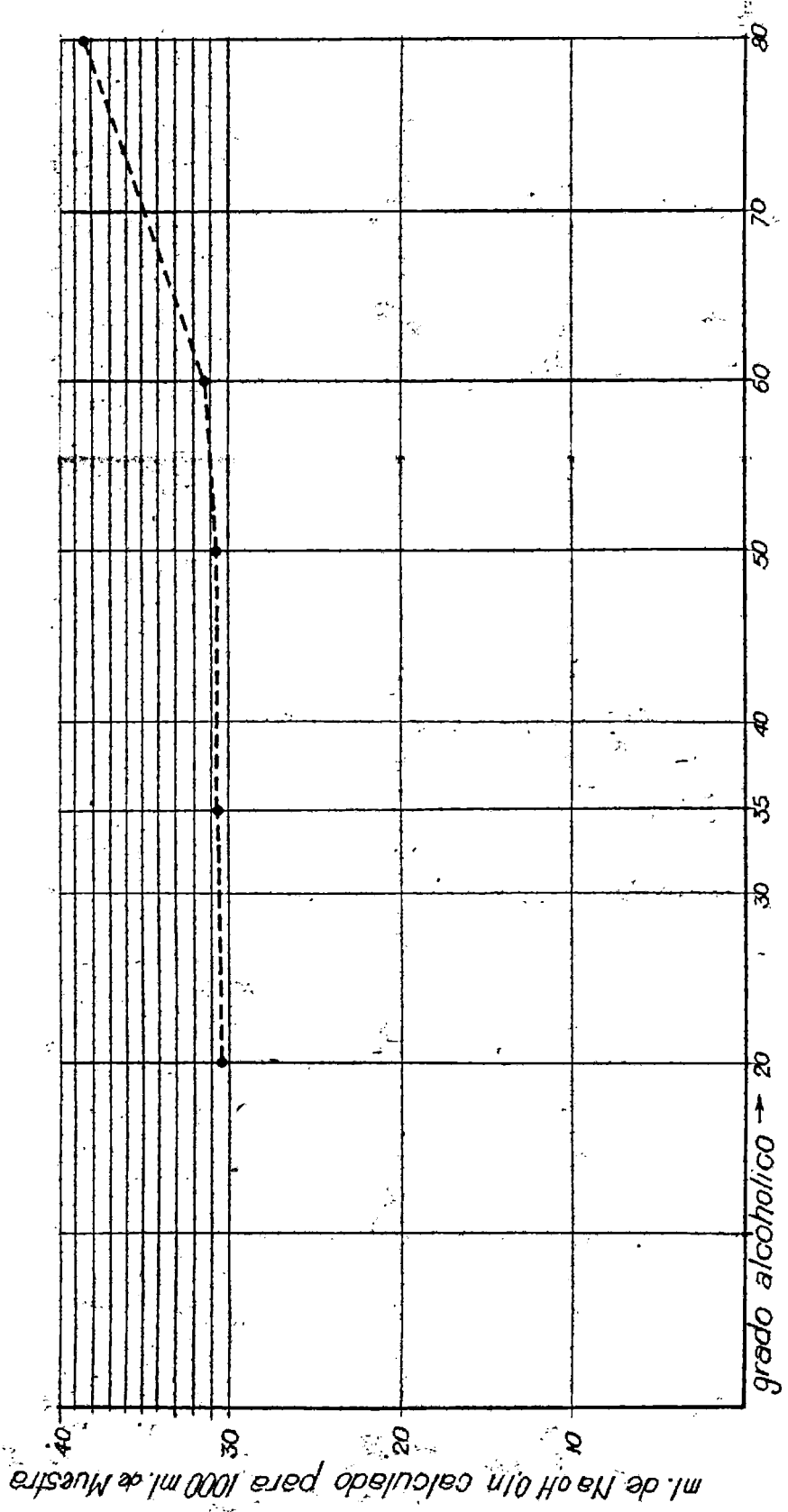
## RESULTADOS ANALITICOS

Tabla nº 10.-

Grado alcohólico: 52°

Cantidad de destilado ml	Grado alcohólico.	NaOH 0,1n gastado en saponificación. ml	NaOH 0,1n calculado para 1 litro. ml
50 más H <sub>2</sub> O dest. hasta	20°	1,53	
50 " " " "	20°	1,53	
50 " " " "	20°	1,52	
		<u>valor medio:1,526</u>	<u>30,52</u>
50 " " " "	35°	1,52	
50 " " " "	35°	1,53	
50 " " " "	35°	1,54	
50 " " " "	35°	1,53	
		<u>valor medio:1,530</u>	<u>30,60</u>
50 " " " "	50°	1,53	
50 " " " "	50°	1,53	
50 " " " "	50°	1,53	
		<u>valor medio:1,530</u>	<u>30,60</u>
50 " alcohol 95° "	60°	1,52	
50 " " " "	60°	1,54	
50 " " " "	60°	1,53	
50 " " " "	60°	1,57	
50 " " " "	60°	1,61	
		<u>valor medio:1,555</u>	<u>31,10</u>
50 " " " "	80°	1,75	
50 " " " "	80°	2,00	
50 " " " "	80°	1,90	
50 " " " "	80°	2,10	
50 " " " "	80°	1,80	
		<u>valor medio:1,910</u>	<u>38,20</u>

Gráfico demostrativo de las variaciones observadas en la saponificación de los ésteres al variar el grado alcohólico.





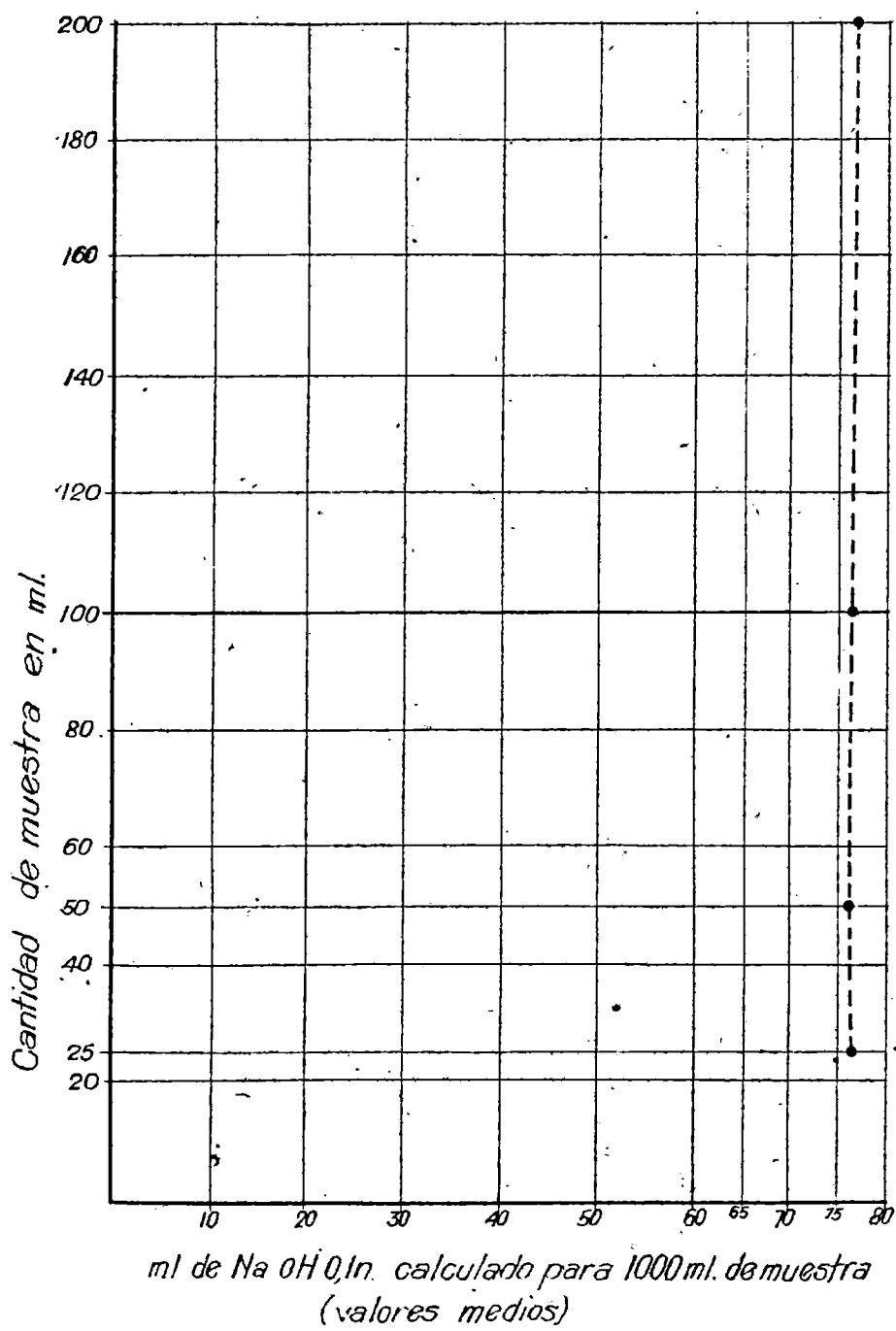
## R E S U L T A D O S   A N A L I T I C O S

Tabla n° 11.-

Grado alcohólico: 55°

Cantidad de destilado lle- vado a 50°	NaOH 0,1n agregado	NaOH 0,1n gastado	NaOH 0,1n calculado para 1 lt.	Valores medios
ml	ml	ml	ml	ml
25	5	1,91	76,4	
25	5	1,92	76,8	
25	5	1,91	76,4	
25	5	1,93	77,2	<u>76,70</u>
50	10	3,82	76,4	
50	10	3,82	76,4	
50	10	3,83	76,6	
50	10	3,82	76,4	
50	10	3,82	76,4	<u>76,44</u>
100	20	7,65	76,5	
100	20	7,69	76,9	
100	20	7,64	76,4	
100	20	7,64	76,4	<u>76,55</u>
200	40	15,30	76,5	
200	40	15,29	76,45	
200	40	15,73	78,65	
200	40	15,31	76,55	<u>77,03</u>

Gráfico demostrativo de las variaciones observadas en la saponificación de los ésteres operando con diferentes cantidades de muestra.



Aldehidos,-

Un problema que nos queda por resolver es el de la probable acción de los aldehidos en la determinación de los ésteres de las bebidas destiladas por el método de saponificación.

Dichos elementos se producen durante el proceso de fabricación de las bebidas destiladas y su proporción varía con numerosos factores que no es del caso enumerar. Su principal componente es el aldehido acético, encontrándose asimismo, aunque generalmente en mucha menor proporción, la acroleína, el aldehido benzoico, furfurool, etc. Al ser compuestos de bajo punto de ebullición destilan con facilidad, por lo que siempre se encuentran en el producto de destilación de la muestra.

Barbet y Janárier en un trabajo que publicaron en 1896 (Annales de Chimie Analytique. Tomo I página 367) hacen ya referencia a este problema señalando las variaciones que en la influencia de los aldehidos tiene el tipo de solución alcalina empleada, vale decir, aceptan el error que se produce en la determinación de los ésteres por la presencia de los aldehidos en la muestra tratada; y establecen entonces que el error está condicionado por el tiempo de calentamiento, por la naturaleza de los aldehidos y por la concentración alcalina que actúa; estiman los autores que el mayor gasto de álcali observado debe ser atribuido al fenómeno de resinificación.

Con posterioridad a este trabajo, Barbet (24) reitera en 1906 el concepto de que el NaOH y el KOH resinifican los aldehidos, fenómeno que según expresa vá acompañado de una cierta neutralización del álcali; niega en esta oportunidad la existencia o las ventajas de un coeficiente de corrección conveniente por cuanto el error, dice, varía con la naturaleza del aldehido y su proporción, para un mismo tiempo de calentamiento y para una misma concentración alcalina.

Este gasto complementario de álcali que aumenta el valor del necesario para la exclusiva saponificación de los ésteres ha sido reconocido por Peynaud (Revue de viticulture. n° 86 página 209) que manifiesta que el aldehido acético en los vinos causa error impor-

//tante en la técnica para la determinación de ésteres debido a la absorción de álcali; aún cuando Peynaud se refiere a los vinos, sin lugar a dudas podemos extender el criterio a las bebidas que estamos tratando que contienen a ambos compuestos: ésteres y aldehidos.

Tobie (44) a su vez ha efectuado estudios tendientes a la modificación de métodos de análisis de bebidas destiladas con el propósito de hacerlos más breves, más convenientes, más ajustados a la realidad y más económicos; y entre los varios problemas que estudia debe destacarse el que se refiere a los efectos de los aldehidos en la determinación de ésteres, en cuya oportunidad expresa: "... nuestros resultados indican que los errores debidos a los aldehidos, aunque pequeños cuando cantidades normales están presentes, no son de ningún modo inestimables. En los casos en que el contenido de aldehido es alto, como en algunas muestras de alcohol de cabeza, o cuando están en alta concentración relativa a los ésteres, como en el caso de algunos rums, el error puede ser algo más grande." Admite el autor que algo de aldehido parece resinificarse produciendo la típica coloración amarilla final cuya intensidad varía con la proporción en que se produce el fenómeno, pero que por otra parte forma ácido aparentemente por la reacción de Cannizaro, causando entonces parcial neutralización de la solución alcalina agregada en exceso para la saponificación, hecho éste que en consecuencia eleva el gasto de álcali proporcionando entonces datos más altos de ésteres.

Establecido pues por la bibliografía que la presencia de los aldehidos tiene su influencia en los resultados de la determinación de ésteres, influencia que se revela por la obtención de datos más altos que los debidos, veremos en que forma se ha tratado con anterioridad de resolver el problema que se planteaba.

Barbet y Jandrier(trabajo citado) preconizan el empleo exclusivo de una solución de sacarato de calcio; de la misma manera lo propone el Método Oficial Francés, pero aclarando en forma expresa "cuando hay proporción apreciable de aldehidos".

Barbet en 1906 (24) dice que no se debe emplear jamás ni NaOH ni KOH ni  $Ba(OH)_2$  sino sacarato de calcio que saponifica íntegramente

//los ésteres sin tardar más que la potasa, teniendo la ventaja sobre ésta y los demás álcalis, de no resinificar los aldehidos. Según Meyer (45) la solución de sacarato de calcio se prepara con una parte de cal, cinco partes de azúcar y una cantidad de agua azucarada tal que la solución se aproxime a 0,1n; dice Barbet que el título es estable al existir un pequeño exceso de azúcar y que puede agregarse un poco de timol para impedir su fermentación.

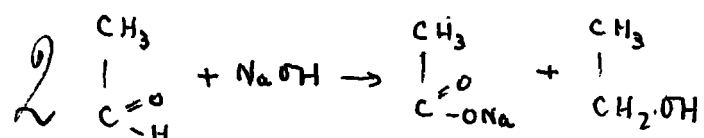
Estudiando el proceso de esterificación en los vinos, Peynaud afirma que el método más conveniente para subsanar el error que dan los aldehidos en la determinación de ésteres decrece mucho por tratamiento previo de la muestra con hidroxilamina, con la que indudablemente se bloquea o hace desaparecer prácticamente la función aldehido.

Allen (16) estima este criterio como excelente desde un punto de vista teórico pero dice que en la práctica se complicaría la determinación, expresando además que prácticamente el error debido a los aldehidos es pequeño.

Tobie (44) propone un método "acelerado" para la determinación de ésteres y al comparar los resultados obtenidos con los que dan los dos métodos de la A.O.A.C. dice que, al emplear en el procedimiento propuesto una menor cantidad de álcali (10 ml de NaOH 0,1 n para 50 ml de muestra), esta cantidad que es suficientemente efectiva como para saponificar los ésteres, reduce en gran proporción los errores debidos a los aldehidos. Concluye también que empleando el procedimiento propuesto la incidencia de la cantidad de aldehidos en los resultados de la determinación de ésteres crece lentamente con aquéllos hasta que la concentración adquiere un cierto valor (40 g de acetaldehido por 100 litros de alcohol absoluto) pasado el cual el error se mantiene constante; de estos hechos deduce que la cantidad de aldehidos que experimenta la reacción de Cannizaro es de poca importancia y no aumenta cuando el aldehido se encuentra sobre aquélla cantidad y que el fenómeno de resinificación aumenta en forma proporcional a la cantidad de aldehido presente, hecho fácilmente com-

//prensible y demostrable por el paralelo aumento de la intensidad del color amarillo típico al final de la saponificación.

Tenemos entonces como consecuencia del estudio de los antecedentes precedentemente mencionados que la influencia que ejercen los aldehidos en los resultados de la determinación de ésteres puede atribuirse no a la resinificación sino al fenómeno de Cannizaro, que se interpreta en la siguiente forma:



y que esta influencia varía con el tiempo de calentamiento, la naturaleza y proporción de los aldehidos presentes, y la concentración alcalina actuante. La anterior aseveración descarta que se emplee sacarato de calcio que solo evitaría la resinificación.-

En el procedimiento que hemos fijado hasta ahora solo el primer elemento de los detallados permanece constante por lo cual descartamos asimismo la aplicación de un coeficiente de error que variaría sin duda con la concentración alcalina (Tobie) y con la naturaleza y proporción de los aldehidos (Barbet).

Nos quedan pues por considerar dos elementos: concentración alcalina y naturaleza y proporción de aldehidos. Como en la práctica de los laboratorios no se efectúa la identificación de estos últimos en el análisis común de bebidas sino que se hace la determinación en forma genérica global por función, cualquier conclusión respecto de la influencia variable según la naturaleza de los aldehidos carecería de practicidad por cuanto resultaría largo y trabajoso determinar en cada muestra cuales son los aldehidos que existen y en que proporción en particular únicamente con el fin de medir su influencia en la determinación de ésteres, sobre todo teniendo en cuenta que ya se ha afirmado que el error no es grande.

Con referencia a la concentración alcalina actuante debemos expresar que ya hemos visto este asunto con anterioridad en cuya o-

//oportunidad y en forma provisoria fijamos su cantidad proporcional a la cantidad de ésteres (tres veces - dos veces como mínimo - el necesario para la saponificación) aunque dejando para una resolución definitiva al tratar el tema de los aldehidos.

Ahora bien, como según nuestros conocimientos el error aumenta con la cantidad de álcali en exceso que se agrega, antes de buscar una solución al problema que estamos tratando, debimos considerar la cuestión de si eliminando los aldehidos subsiste la necesidad de emplear el exceso de álcali fijado en forma provisoria.

Trabajando con destilado desaldehidizado, efectuamos varias determinaciones haciendo variar el exceso de álcali agregado. Los resultados obtenidos (tabla n° 12) nos confirman la influencia de la cantidad de álcali aunque en una proporción algo menor que la observada en las respectivas experiencias anteriores (tabla n° 3) como asimismo se denota la mayor regularidad en los datos obtenidos cuando se emplea un exceso de NaOH 0,1n igual a tres veces o un mínimo de dos veces del que se gasta en la saponificación.

Consecuencia de esta comprobación es que resulta imposible fijar una única cantidad de álcali para el procedimiento, ya que aquélla deberá variar según la proporción de ésteres existentes en la muestra; pero aceptado que la acción del álcali sobre el aldehido aumenta con su concentración, llegamos a la única conclusión posible y es la necesidad de desaldehidizar el destilado donde se debe efectuar la determinación de ésteres. Con éllo complicaremos el método pero es indudable que la pérdida de tiempo lleva implícita una mayor exactitud ya que elimina un factor de error que puede ser importante. El procedimiento empleado ya de desaldehidización no presenta inconvenientes y proporciona resultados satisfactorios.

## CONCLUSION PRACTICA PARCIAL N° 11.-

Aceptado el error que se produce durante el proceso de saponificación al experimentar los aldehídos la reacción de Cannizzaro, desechado el empleo de una solución de sacarato de calcio como compuesto alcalino saponificante con la que solo se evita la resinificación de aquéllos, eliminado el criterio de fijar un factor de corrección adecuado y práctico, teniendo en cuenta que la acción del álcali aumenta con la cantidad presente, y probada prácticamente -ahora en muestra desaldehidizada- la necesidad de trabajar con un volumen de solución alcalina 0,1 n igual a tres veces -con un mínimo de dos veces- el necesario para la saponificación de los ésteres, concluimos que la determinación que constituye nuestro problema debe efectuarse sobre destilado desaldehidizado. El procedimiento de desaldehidización empleado en experiencias anteriores proporciona resultados satisfactorios.



## RESULTADOS ANALITICOS

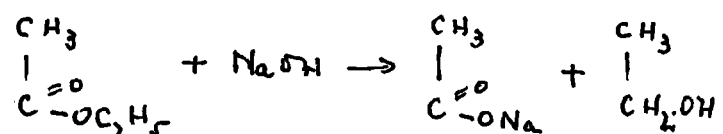
Tabla n° 12.-

Grado alcohólico: 57°

Destilado desaldehydizado y llevado a 50° alcohólicos.	NaOH 0,1n a- agregado en exceso	NaOH 0,1n de saponi- ficación	NaOH 0,1n de sa- ponificación, calculado para 1 litro.
ml	ml	ml	ml
50	5	4,80	96,00
50	5	4,60	92,00
50	5	4,65	93,00
50	5	4,70	94,00
50	5	4,65	93,00
			<u>valor medio: 93,60</u>
50	10	4,80	96,00
50	10	4,80	96,00
50	10	4,75	95,00
50	10	4,80	96,00
50	10	4,80	96,00
			<u>valor medio: 95,80</u>
50	12	4,80	96,00
50	12	4,80	96,00
50	12	4,80	96,00
50	12	4,80	96,00
50	12	4,80	96,00
			<u>valor medio: 96,00</u>
50	20	4,85	97,00
50	20	4,95	99,00
50	20	5,20	104,00
50	20	4,90	98,00
50	20	5,10	102,00
			<u>valor medio: 100,00</u>

Expresión de resultados.-

Como ya dijimos la reacción de saponificación se interpreta en la siguiente forma:



o sea que cuantitativamente 88 g de acetato de etilo reaccionan con 40 g de NaOH; como empleamos solución 0,1n de NaOH, cada mililitro de ésta contiene 0,004 g, que saponificarán 0,0088 g de acetato de etilo.

De esta manera si multiplicamos el número de mililitros de la solución alcalina 0,1n que gastamos en la saponificación, por el factor 0,0088 tendremos, expresada en gramos de acetato de etilo, la cantidad de ésteres que contiene el volumen de muestra ensayada.

Supongamos haber gastado 5 ml de NaOH 0,1n para 50 ml de muestra, que es la cantidad que hemos adoptado:

- (1)  $5 \times 0,0088 =$  gramos de ésteres en 50 ml de muestra.
- (2)  $5 \times 0,0088 \times 20 =$  gramos de ésteres en 1,000 ml de muestra.
- (3)  $5 \times 17,60 =$  gramos de ésteres por hectólitro de muestra.

Si los resultados se quieren expresar en alcohol absoluto, tendremos, si consideramos  $X^\circ =$  grado alcohólico de la muestra:

- (4)  $5 \times 0,0088 \times \frac{100^\circ}{X^\circ} =$  gramos de ésteres en 50 ml de muestra a  $100^\circ$
- (5)  $5 \times 0,176 \times \frac{100^\circ}{X^\circ} =$  gramos de ésteres en 1,000 ml de muestra a  $100^\circ$
- (6)  $5 \times 17,60 \times \frac{100^\circ}{X^\circ} =$  gramos de ésteres por hectólitro de muestra a  $100^\circ$

En realidad, los resultados obtenidos nos dicen que en tal volumen de muestra hay una suma global de ésteres que reacciona con el álcali como lo haría tal peso de acetato de etilo.

Como al estudiar la influencia del grado alcohólico en la saponificación de los ésteres concluimos que no se debe trabajar con

////

//muestras de más de 50° (si existe una riqueza alcohólica mayor debe efectuarse la dilución conveniente) estimamos que la forma más cómoda para expresar los resultados es una de las adoptadas por el Reglamento Bromatológico de la Provincia de Buenos Aires, y es en: gramos por mil mililitros de muestra -(2)-.

## RECAPITULACION

Del estudio teórico crítico comparado realizado en las fuentes bibliográficas mencionadas atinentes a la cuestión tratada puede desde ya establecerse:

1°) que los ésteres son productos de formación endógena que se difunden poco a poco al exterior, ya que es en el interior de la levadura donde se produce la combinación ácido-alcohol. Y que distintos factores intervienen en la composición química de un crudo o de un destilado afectando en consecuencia a la cantidad de ésteres; dichos factores son: para el crudo - cepaje y condiciones climáticas que han presidido la vegetación, naturaleza de la levadura, substracto en la que ésta se ha desarrollado y actúa, pH del medio, temperatura, contacto con el aire y acción de arrastre del anhídrido carbónico producido en el proceso de fermentación; para el destilado - técnica destilatoria, tipo de aparato, grado de rectificación y tiempo forma de almacenamiento.

2°) que al considerar los métodos y procedimientos físicos hemos estimado que implican condiciones físicas estrictas y multiplicidad de operaciones largas o delicadas que los hacen inaplicables en los laboratorios de análisis de contralor donde se exige no solo exactitud suficiente sino también practicidad, sencillez y rapidez.

3°) que si bien numerosos investigadores han estudiado con mayor o menor detenimiento los procedimientos químicos (o las variantes en el procedimiento químico), sus resultados no han podido concretarse en un procedimiento que tuviera en cuenta la influencia de los numerosos factores en la reacción química principal.

El objeto de este trabajo ha sido precisamente enfocar esta cuestión en su mayor amplitud posible de orden práctico; del estudio teórico práctico realizado podemos extraer las siguientes

### CONCLUSIONES

De la armonización de las conclusiones parciales ya concretadas ( páginas: 29 - 40 - 43 - 51 - 61 - 71 - 76 - 82 - 89 - 95 - 105 )

///

// establecemos:

PRIMERA

a) Que la determinación de ésteres debe efectuarse sobre el producto de destilación de la muestra en cuyas condiciones nos encontraremos frente a un líquido menos complejo y sin los inconvenientes de la presencia de color que implicaría: probable error, en la determinación por acción del álcali sobre compuestos saponificables extraídos de la madera de los toneles durante el almacenamiento o envejecimiento de la bebida, y dificultades para una buena observación del viraje del indicador; por otra parte son notorias las ventajas que se obtienen uniformando el procedimiento para todas las bebidas destiladas, sean éstas coloreadas o nó. El volumen de muestra a destilar deberá ser de 100 ml -con un máximo de 200 ml- diluido convenientemente con agua destilada; la destilación se hará con elevación gradual de la temperatura para evitar los pasos bruscos y en aparato con características definidas en cuanto respecta al tamaño del balón, tipo de unión con el refrigerante disposición para recoger el producto de la destilación.

b) Que dicho producto deberá ser desaldehidizado por tratamiento sucesivo con clorhidrato de metafenilendiamina y fosfato de anilina, única forma de evitar la aceptada acción de la función aldehído en la reacción; diluido con agua destilada si su riqueza alcohólica es superior a 50°, a fin de subsanar el inconveniente de la oxidación del alcohol durante la saponificación, fenómeno demostrado en nuestros ensayos cuando el grado alcohólico fué superior a aquél valor; y neutralizado con solución de NaOH 0,1n empleando azul de bromo timol como indicador. La capacidad de las buretas a usarse, para obtenerse mayor exactitud y facilitarse la operación, dependerá del dato de acidez titulable.

c) Que la saponificación de los ésteres contenidos en 50 ml -1 100 ml como máximo- se efectuará por la acción de un volumen de solución de NaOH 0,1n que oscile entre el doble y el triple del volumen nece-

///

//sario; y por ebullición durante media hora, obtenida empleando el baño-maría hirviente como fuente calórica, cuyas ventajas sobre el uso de la llama del mechero se pueden concretar en los siguientes hechos: no exige vigilancia constante, disminuye el tiempo necesario para alcanzar la ebullición y hay evidente uniformidad de calentamiento en toda la masa. El aparato a emplearse estará constituido por un balón de vidrio poco atacable por soluciones alcalinas (Pirex o Jena), de 500 ml de capacidad, unido directamente a un refrigerante ascendente, a bolas, habiéndose descartado definitivamente los tapones de corcho o de caucho por los inconvenientes que presenta su empleo entre los cuales debe destacarse la acción de los vapores alcohólicos, que hemos probado, modifica los resultados.

d) Que la evaluación del álcali gastado en la saponificación de los ésteres se efectuará por retorno con ácido sulfúrico 0,1n, en frío, y previo lavado del refrigerante con agua destilada hervida y enfriada.

#### SEGUNDA

Que el procedimiento que indicamos a continuación, responde a las exigencias y condiciones establecidas en la primera conclusión:

- a) destilación - medir 100-200 ml de muestra en balón de vidrio de 500 ml, adicionar 12,5 - 25 ml de agua destilada y unos trozos de piedra pómez; unir por tubo acodado a un refrigerante recto terminado en tubo de alargadera acodado (uniones esmeriladas). Destilar por calentamiento a la llama, con tela metálica, por elevación gradual de la temperatura a fin de evitar el paso brusco de compuestos sobre todo al comenzar la operación. Mantener un régimen destilatorio bien regular. Recoger 100-200 ml de destilado (líquido A) en probeta graduada, de poco diámetro y boca lo suficientemente pequeña como para permitir, prácticamente, solo el paso de la alargadera. La probeta deberá ser mantenida en baño de agua.-

///

- // b) desaldehydización - (Método de Girard-Cuniasse) - "A 100-200 ml de (A) se añaden 10-20 g de clorhidrato de metafenilendiamina y se hierve con refrigerante ascendente media hora a baño-maría a 100°C, evitando en el dispositivo todo contacto con corchos, utilizando un aparato con uniones esmeriladas; luego se deja enfriar y filtra; el contenido del balón, agregando a razón de 1% de fosfato de anilina puro (1 ml de cada uno), se somete a ebullición a reflujo durante media hora a baño-maría siendo regulada la ebullición por agregado de trozos de piedra pómez; luego se destila a presión reducida por medio de una trompa de agua y calentamiento por baño-maría regulado a 50° C. (líquido B)."  
*→ hasta casi a sequedad; completar a 100-200 ml a 47-20°*
- c) saponificación - En balón de vidrio Pirex o Jena de 250 ml, neutralizar, llevando a color azul celeste, 50-100 ml de (B) con solución de NaOH 0,1n empleando 15-20 gotas de solución alcohólica al 0,5% de azul de bromo timol como indicador y buretas de 5 o 25 ml de capacidad según sea el dato de acidez (si el grado alcohólico de la muestra es mayor de 50°, efectuar previamente y en el balón la conveniente dilución con agua destilada a fin de reducir la riqueza alcohólica a aquel valor). Agregar entonces un volumen conocido de solución de NaOH 0,1n, unos trozos de piedra pómez y conectar por unión esmerilada con refrigerante ascendente, a bolas. Calentar a ebullición durante media hora por baño-maría hirviente. Dejar enfriar. Lavar el refrigerante con pequeño volumen de agua destilada, retirarlo, agregar un volumen de solución de ácido sulfúrico 0,1n igual al de la solución alcalina adicionada y titular el exceso de ácido con solución de NaOH 0,1n llevando a color azul celeste, como en la neutralización. Si se observa que el exceso de solución de NaOH 0,1n agregado para la saponificación es inferior a dos veces o superior a tres veces el gastado, se repetirá la operación empleando un volumen que responda a esas condiciones, calculado ahora

///

//en base al primer dato obtenido. Este hecho justifica la  
disposición adoptada de destilar y desaldehydizar doble can-  
tidad de muestra necesaria para la determinación.-

- - - - -



BIBLIOGRAFIA

- 1.- CÁLVELT (E). "Química general aplicada a la industria".  
Barcelona. Año 1943. Segunda edición. Tomo IV. Capítulos XV y XVI.-
- CERIOTTI (A). "Guía sintética de análisis bromatológicos".  
En: Revista Farmacéutica de la Sociedad Nacional de Farmacia. Buenos Aires. Año 1930. Tomo LXXII. Página 219.-
- 2.- "Reglamento bromatológico de la Provincia de Buenos Aires.  
La Plata. Año 1944. Tercera edición.
- 3.- MASTBAUM-LESBONNE. "Sobre los aguardientes. Su apreciación".  
En: VI Congreso Internacional de Química Aplicada. Roma. Año 1906. Tomo III. Página 316.-
- 4.- ARDUINO (A). "Contribución al estudio de los whiskies". (tesis).  
Año 1941. Facultad de Química y Farmacia. La Plata.
- 5.- MOIRANO (G). "Alcoholes superiores en bebidas alcohólicas destiladas". (tesis).  
Año 1940. Facultad de Química y Farmacia. La Plata.
- 6.- OGIER (J)-KOHN ABREST (E). "Traité de chimie toxicologique".  
París. Año 1924. Duodécima edición. Tomo I. Página 449.
- 7.- KAYSER-DEMOLOH. "Sur la formation, la variation et l'évolution des éthers dans les liquides fermentés".  
En: Seventh International Congress of Applied Chemistry. Londres. Año 1909. Section VI B. Fermentation. Página 116.-
- 8.- ORDONNEAU (CH). "Sur la nature des éthers de l'eau de vie de vin et sur les causes qui font varier la quantité qu'elle possède".  
En: Seventh International Congress of Applied Chemistry. Londres. Año 1909. Section VIIIc. Bromatology. Página 224.-
- 9.- RHODIUS (E.P.de). "Normalización y unificación de métodos de evaluación de la acidez titulable y iónica de las bebidas fermentadas". (tesis).  
Año 1940. Facultad de Química y Farmacia. La Plata.
- 10.- GUILLON (J.M). "Sur les cognacs".  
En: Seventh International Congress of Applied Chemistry. Londres. Año 1909. Section VIIIc. Bromatology. Página 222.-
- 11.- KAYSER (E). "Fermentation du jus de vesou".  
En: Annales des Falsifications et des Fraudes. París. Año 1917. Tomo X. Página 296.
- 12.- GIRARD (CH). "Analyse des matieres alimentaires et recherche de leurs falsifications".  
París. Año 1904. Segunda edición. Página 279.  
Capítulo de: "Alcools et spiritueux", par SAGLIER(M).-
- 13.- GIRARD (CH). "Rapport sur les eaux de vie et alcools de consommation".  
En: Seventh International Congress of Applied Chemistry. Londres. Año 1909. Section VIIIc. Bromatology. Página 217.-

- 14.- CARRANZA (F). "Estudio de los aguardientes peruanos".  
En: Boletín de la Sociedad Química del Perú. Año 1939.  
Volumen V. nº 1. Página 3.-
- 15.- COX (H.E.). "Chemical analysis of food".  
Londres. Año 1926.-
- 16.- ALLEN (A.H.). "Commercial organic analysis".  
Londres. Año 1937. Quinta edición. Tomo I. Página 257.
- 17.- PRESCOTT (S.C.)-DUNN (C.G.). "Industrial microbiology".-  
Nueva York. Año 1940. Primera edición.
- 18.- BELLET (E.M.). "Quelques observations sur les transformations chimiques qui accompagnent le vieillissement des eaux-de-vie".  
En: Bulletin de la Société Chimique de France. (Mémoires). Año 1937. Tomo IV. Página 713.-
- 19.- LEACH (A.E.)-WINTON (A.L.). "Food inspection and analysis".  
Nueva York. Año 1932. Cuarta edición. Capítulo XV.  
Página 762.-
- 20.- MUNCH (J.C.). "The refractometric determination of alcohols and esters in aqueous and in cottonseed oil solutions".  
En: The Journal of The American Chemical Society.  
Año 1926. Volumen XLVIII. Página 994.-
- 21.- TEDESCHI (H.V.). "Tratado de física médica y farmacéutica".  
Buenos Aires. Año 1924. Tomo I. Páginas 112 y 116.-
- 22.- SIGALAS (C). "Précis de physique appliquée a la pharmacie".  
París. Año 1905. Segunda Edición. Páginas 85 y 89.-
- 23.- MELLOR (J.W.)-PARKES (G.D.). "Modern inorganic chemistry".  
Londres. Año 1939. Novena edición. Página 226.-
- 24.- BARBET (E). "Uniformización de métodos de dosaje de los principales elementos extraños en alcoholes y aguardientes".  
En: VI Congreso Internacional de Química Aplicada.  
Roma. Año 1906. Tomo III. Página 280.-
- 25.- CAMPBELL (F.H.). "The estimation of esters in distilled liquors".  
En: The Journal of The Association of Official Agricultural Chemist. Año 1931. Volumen XIV. Página 576.
- 26.- VILLAVECCHIA (V). "Tratado de química analítica aplicada".  
Traducción por Tomás Estalella. Barcelona. Año 1944.  
Segunda edición. Tomo II. Página 318.-
- 27.- COMENGE (M). "Análisis de alimentos".  
Madrid. Año 1936. Segunda edición. Página 465. Capítulo: "Aguardientes y licores."
- 28.- TAVEIRA (M)-ALVES FILHO (J.E.). "Química bromatológica das bebidas fortemente alcoolicas".  
En: Revista da Sociedade Brasileira de Química. Río de Janeiro. Año 1933. Tomo IV. Nº 2. Página 106.-
- 29.- SCOTT (W.W.). "Standard methods of chemical analysis".  
Nueva York. Cuarta edición. Tomo II. Página 1746.-
- 30.- POST (J)-NEUMANN (B). "Traité complet d'Analyse Chimique Appliquée aux essais industriels".  
París. Año 1910. Tomo II. Nº 3. Página 796.-

- 31.- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST. "Methods of analysis".  
Washington. Año 1940. Quinta edición. Capítulo de:  
"Distilled liquors".
- 32.- ROCQUES (X). "Eaux-de-vie, naturelles et industrielles".  
París. Año 1913.-
- 33.- L<sup>F</sup>OPRINCE (M)-LECOG (R). "Guide pratique d'Analyses Alimentaires et  
d'Expertises chimiques usuelles".  
París. Año 1930. Segunda edición. Página 461.-
- 34.- ISSOGLIO (G). "Lachimica degli alimenti".  
Torino. Año 1927. Tomo II. Página 778.
- 35.- ESPIL (L)-PEYNAUD (E). "Dosage des esters neutres dans le milieu de  
fermentation".  
En: Bulletin de la Société Chimique de France. París.  
Año 1936. Tomo III. Página 2324.-
- 36.- HERRERA (D). "Estudio analítico de los aguardientes de caña".  
En: Boletín de la Sociedad Química del Perú. Año 1940.  
Volumen VI. N° 3. Página 13.-
- 37.- CASADEVANTE-SANFELIU. "Técnicas de laboratorio".  
Madrid. Año 1933. Primera edición. Página 69.-
- 38.- DENIGES (G). "Precis de chimie analytique".  
París. Año 1920. Quinta edición.
- 39.- TREADWELL (F.P). "Tratado de química analítica".  
Barcelona. Año 1921. Décima edición. Tomos: I - II.  
Traducción por C. Lana Sarrate.
- 40.- MASTBAUM (H). "Sur l'analyse des alcools et eaux-de-vie".  
En: Seventh International Congress of Applied Chemis-  
try. Londres. Año 1909. Section VIIIc. Bromatology.  
Página 229.-
- 41.- ROCQUES (X). "Eaux-de-vie de vin, le Cognac, sa composition, la te-  
neur en non-alcool, la nature du non-alcool".  
En: Seventh International Congress of Applied Chemis-  
try. Londres. Año 1909. Section VIIIc. Bromatology.  
Página 230.
- 42.- GIRARD-CUNIAËSE. "Analyse de alcools".  
París. Año 1899.-
- 43.- HOSSACK (J). "The determination of esters in alcoholic liquids".  
En: The Analyst. Cambridge. Año 1935. Tomo LX. Página  
170.-
- 44.- TOBIE (W.C). "Improved methods of distilled-liquor analysis".  
En: Food Research. Illinois. Año 1941. Tomo VI. Pági-  
na 15.-
- 45.- MEYER (H). "Analyse et détermination de la constitution des com-  
posés organiques".  
París. Año 1924. Primera edición. Tomo II. Página 658.

