

PRODUCTOS ELABORADOS A PARTIR DE FRUTAS
Y HORTALIZAS

Determinación cualitativa y cuantitativa del ácido
salicílico y salicilatos alcalinos

COGUANOR
NGO 34 003 h27

1. OBJETO

Esta norma tiene por objeto establecer los métodos de ensayo para determinar cualitativa y cuantitativamente el ácido salicílico y salicilatos alcalinos en los productos elaborados a partir de frutas y hortalizas.

2. NORMAS COGUANOR A CONSULTAR

Para la aplicación de esta norma no es necesaria la consulta específica de ninguna otra.

3. METODO CUALITATIVO

3.1 Principio del método cualitativo. Consiste en extraer el ácido salicílico con éter etílico en medio ácido, evaporación del extracto etéreo y tratamiento del residuo con solución de cloruro férrico. Una coloración violeta indica la presencia de ácido salicílico.

3.2 Reactivos o materiales

3.2.1 Solución (1 + 3) de ácido clorhídrico. Se diluye un volumen de ácido clorhídrico ($d = 1.19$) con tres volúmenes de agua destilada.

3.2.2 Eter etílico, reactivo para análisis.

3.2.3 Eter de petróleo, fracción que destila abajo de 60°C

3.2.4 Solución acuosa al 0.5% de cloruro férrico

3.2.5 Solución (1 + 9) de hidróxido de amonio. Se diluye un volumen de hidróxido de amonio ($d = 0.90$) con nueve volúmenes de agua destilada.

3.2.6 Cloruro de sodio (NaCl)

3.2.7 Alcohol etílico al 95% (v/v)

3.2.8 Solución al 10% de hidróxido de sodio

3.2.9 Cloruro de calcio (CaCl_2)

3.2.10 Sulfuro de carbono (CS_2)

3.3 Aparatos

3.3.1 Ampolla de decantación de 250 cm^3

3.3.2 Cápsula de porcelana

Continúa

- 3.3.3 Baño de María
- 3.3.4 Matraz aforado de 250 y de 500 cm³
- 3.3.5 Vaso de precipitados de 400 cm³
- 3.3.6 Embudo de vidrio
- 3.3.7 Probeta de 100 cm³
- 3.3.8 Pipeta de 100 cm³
- 3.3.9 Centrifugadora
- 3.3.10 Plancha de asbesto
- 3.3.11 Desecador, con ácido sulfúrico concentrado
- 3.3.12 Instrumental de laboratorio

3.4 Preparación de la muestra

3.4.1 Líquidos no alcohólicos. Muchos líquidos pueden ser sometidos directamente al análisis cualitativo y cuantitativo sin ningún tratamiento adicional.

Si durante la extracción se forman emulsiones difíciles de separar, se transfieren con una pipeta volumétrica 100 cm³ de la muestra a un matraz volumétrico de 250 cm³. Se agregan aproximadamente 5 g de NaCl, se agita hasta disolución completa de la sal, se ajusta el volumen con alcohol etílico al 95% (v/v), se vuelve a agitar vigorosamente, se deja reposar durante 10 min, agitando ocasionalmente, se filtra y luego se trata una alícuota del filtrado de acuerdo a lo indicado en 3.4.2.

3.4.2 Líquidos alcohólicos. Un volumen de 200 cm³ de la muestra se alcaliniza, en presencia de papel indicador, mediante la adición de solución aproximadamente al 10% de hidróxido de sodio. Luego se evapora en baño María hasta que el volumen se reduzca a aproximadamente 1/3 del volumen original y se vuelve a llevar con agua destilada al volumen original de 200 cm³; se filtra si es necesario.

3.4.3 Sustancias sólidas y semisólidas. Se muele la muestra y se mezcla bien, se transfiera una cantidad conveniente, de 50 a 200 g de acuerdo a la consistencia de la muestra, a un matraz volumétrico de 500 cm³, se agrega agua destilada hasta un volumen de 400 cm³ aproximadamente, y se agita hasta lograr una mezcla homogénea. Se agregan de 2 a 5 g de CaCl₂ y se mezcla hasta que se disuelva.

Se alcaliniza en presencia de papel indicador con una solución aproximadamente al 10% de NaOH, se diluye con agua destilada hasta la marca, se agita vigorosamente, se deja en reposo durante no menos de 2 h agitando ocasionalmente y luego se filtra.

3.5 Procedimiento

3.5.1 Se colocan en la ampolla de decantación 50 cm³ de la muestra homogénea original (véase 3.4.1) o un volumen equivalente del extracto acuoso preparado como se indica en 3.4.2 ó 3.4.3, según sea el caso, se le agrega 1/10 de dicho volumen de la solución (1 + 3)

de HCl, se agita, se extrae con 50 cm³ de éter etílico, se agita de nuevo vigorosamente y luego se deja separar en dos capas.

3.5.2 Si la separación no se produce debido a la formación de una fuerte emulsión, se agregan de 10 a 15 cm³ de éter de petróleo y se agita. Si este tratamiento no rompe la emulsión se centrifuga o se deja reposar hasta que una porción considerable de la capa acuosa se separe; se elimina esta última, se agita vigorosamente y se deja separar otra vez.

3.5.3 Se lava 2 veces la capa de éter con porciones de 5 cm³ de agua, cada vez, eliminando ésta después de cada lavado. Se transfiere la capa etérea a una cápsula de porcelana, la cual se coloca en baño María; cuando se haya evaporado la mayor parte del éter, se retira y se deja evaporar el resto a temperatura ambiente.

3.5.4 Se añade una gota de la solución al 0.5% de FeCl₃; una coloración violeta indica la presencia de ácido salicílico.

3.5.5 Si hay material colorante o alguna otra sustancia interferente en el residuo después de la evaporación del éter, es necesario purificar el ácido salicílico mediante uno de los siguientes métodos:

- a) Se disuelve el residuo en aproximadamente 25 cm³ de éter etílico, se transfiere la solución a la ampolla de decantación y se agita con un volumen igual de agua alcalinizada con varias gotas de hidróxido de amonio (1 + 9). Se deja en reposo para que se separen las capas y se filtra la capa acuosa a través de un papel filtro húmedo, recibiendo el filtrado en una cápsula de porcelana.
Se evapora casi a sequedad y se agrega un pequeño volumen de agua caliente, si es necesario se filtra y se agregan unas gotas de la solución de cloruro férrico. Una coloración violeta indica la presencia de ácido salicílico.
- b) Se seca el residuo original que se obtuvo en la extracción, en un desecador sobre H₂SO₄ y se extrae con varias porciones de 10 cm³ de CS₂ o éter de petróleo (punto de ebullición menor de 60°C), se lava con solvente el contenido de la cápsula de porcelana frotando con una varilla de vidrio el residuo adherido a la cápsula y se filtra sucesivamente, a través de papel filtro seco, a una segunda cápsula de porcelana. Se evapora la mayor parte del solvente en baño María, y la parte remanente se deja evaporar en forma espontánea; finalmente, se ensaya el residuo con unas gotas de la solución al 0.5% de FeCl₃. Una coloración violeta indica la presencia de ácido salicílico.
- c) Con unos pocos centímetros cúbicos de éter, se transfiere el residuo que se obtuvo en la extracción con éter a un crisol de porcelana, se deja evaporar el solvente espontáneamente. Se hace una perforación en una plancha de asbesto, suficientemente grande para admitir aproximadamente 2/3 del crisol, se cubre el crisol con un pequeño matraz lleno de agua fría, y se calienta sobre una pequeña llama hasta que el ácido salicílico presente se sublima y condense sobre el fondo del matraz y luego se examina con unas gotas de solución 0.5% de FeCl₃ el sólido sublimado. Una coloración violeta indica la presencia de ácido salicílico.

4. METODO CUANTITATIVO

4.1 Principio del método cuantitativo. Consiste en extraer el ácido salicílico con éter etílico en medio ácido, eliminación del solvente por calentamiento, disolución del residuo en agua, desarrollo de una coloración violeta por el agregado de FeCl₃ o de alumbre de hierro y comparación de la tonalidad del color, con la desarrollada por una solución estándar de ácido salicílico.

4.2 Reactivos o materiales

4.2.1 Sulfuro de carbono, CS₂

4.2.2 Solución al 2% de alumbre férrico. Se deberá hervir la solución de alumbre férrico hasta que aparezca un precipitado, el cual se deja luego sedimentar y se filtra. De esta manera, aumenta ligeramente la acidez de la solución y por lo tanto ésta permanece clara durante un tiempo considerable, y la turbidez causada por su dilución con agua es mucho menor y no aparece tan pronto como cuando se emplea solución sin hervir; la turbidez interfiere en la comparación de las tonalidades del color.

4.2.3 Solución estándar de ácido salicílico, conteniendo 1 mg de ácido salicílico en 50 cm³ de agua. Se prepara disolviendo 20 mg de ácido salicílico en 1 000 cm³ de agua destilada.

4.2.4 Solución indicadora de anaranjado de metilo

4.2.5 Todos los reactivos especificados para el método cualitativo en el apartado 3.2

4.3 Aparatos

4.3.1 Comparador de colores, (colorímetro) o

4.3.2 Tubos de Nessler

4.3.3 Todos los aparatos especificados para el método cualitativo en el apartado 3.3

4.4 Procedimiento

4.4.1 Se transfieren a la ampolla de decantación 100 cm³ de la muestra original (véase 3.4.1) o la cantidad del extracto acuoso preparado como se indica en 3.4.2 ó 3.4.3, según sea el caso, que represente una cantidad igual o mayor de 20 g del material original.

4.4.2 Si la muestra es alcalina se neutraliza al papel tornasol con solución (1 + 3) de HCl y se agrega un exceso de ácido clorhídrico concentrado equivalente a 2 cm³ de ácido por cada 100 cm³ de solución.

4.4.3 Se extrae cuatro veces con éter etílico, empleando en cada extracción un volumen de éter equivalente a la mitad del volumen de la capa acuosa. Si se forma una emulsión al agitar, ésta usualmente se deshace agregando un pequeño volumen de éter de petróleo, equivalente a 1/5 del volumen del éter etílico, y se vuelve a agitar o se centrifuga.

4.4.4 Si una pequeña cantidad de emulsión todavía persiste, se deja que permanezca con la capa acuosa ya que frecuentemente se rompe en la siguiente extracción; si la emulsión permanece después de la cuarta extracción, se separa solamente dicha emulsión a otra ampolla de decantación en donde se extrae con 2 ó 3 pequeñas porciones de éter etílico.

4.4.5 Se combinan los extractos etéreos y se lavan con un volumen de agua igual a 1/10 del volumen total de extracto etéreo, se deja que se separe y se descarta la capa acuosa; se continúa lavando en la misma forma hasta que la capa acuosa, después de separada, adquiera una coloración amarilla al agregarle solución indicadora de anaranjado de metilo y 2 gotas de solución 0.1 N de NaOH.

4.4.6 Lentamente se destila la mayor parte del éter, y se transfiere la pequeña cantidad de extracto etéreo concentrado a una cápsula de porcelana en donde se deja evaporar el éter remanente en forma espontánea, obteniéndose así un residuo seco. Si no estuvieran presentes sustancias interferentes, se continúa como se indica en 4.5; pero, si existieran dichas sustancias, se purifica antes el residuo seco mediante uno de los siguientes métodos:

- a) Cuidadosamente se seca el residuo bajo vacío sobre H_2SO_4 y se extrae 10 veces con porciones de 10 a 15 cm^3 cada vez de CS_2 (1) o de éter de petróleo, removiendo el contenido de la cápsula mediante frotación con una varilla de vidrio y se filtran las porciones sucesivas del solvente a través de papel filtro seco recibiendo en otra cápsula de porcelana. Luego se ensaya el residuo adherido a la cápsula con una gota de solución al 2% de alumbre férrico, y si da reacción para ácido salicílico se disuelve en agua destilada; se acidifica la solución con ácido clorhídrico (1+3), se extrae con éter etílico, se evapora y el residuo obtenido se extrae con CS_2 o éter de petróleo raspándolo con una varilla de vidrio, se filtra el extracto obtenido recogiendo en la misma cápsula de porcelana donde se recogieron las extracciones anteriores, se destila la mayor cantidad de CS_2 o de éter de petróleo y el remanente se deja evaporar espontáneamente; luego se procede como se indica en 4.5.
- b) Se disuelve el residuo en 40 a 50 cm^3 de éter etílico, se transfiere el extracto etéreo a una ampolla de decantación y se extrae con tres porciones de 15 cm^3 cada una de solución al 1% de NH_4OH (Si se sabe que el extracto etéreo original contiene grasa, se emplean entonces 4 porciones de solución al 1% de NH_4OH en vez de 3). Estos extractos acuosos reunidos en uno solo, se acidifican, se extraen de nuevo con éter etílico y se lavan los extractos etéreos combinados en la forma como se indicó anteriormente. Lentamente se destila la mayor parte del éter y el remanente se evapora espontáneamente a la temperatura ambiente; luego se procede como se indica en 4.5.

4.5 Determinación

- a) El residuo obtenido según 4.4.6 se disuelve en una pequeña cantidad de agua caliente y después de enfriada se diluye a un volumen definido (usualmente a 50 ó 100 cm^3); si la solución no es clara se filtra a través de papel filtro seco.
- b) Se diluyen varias alícuotas de esta solución y se tratan con solución al 0.5% de $FeCl_3$ ó con solución de 2% de alumbre férrico, hasta que se desarrolle la máxima coloración; generalmente unas cuantas gotas son suficientes.
- c) Usando tubos de Nessler o un colorímetro apropiado, se comparan los colores desarrollados en las alícuotas, con el color obtenido cuando se trata en forma similar la solución estándar de ácido salicílico que contiene 1 mg de ácido salicílico en 50 cm^3 de agua. Se escoge la alícuota cuya tonalidad sea igual a la de la solución estándar; en caso de que la tonalidad de la solución estándar caiga entre las tonalidades de dos alícuotas, se tomará la alícuota cuya tonalidad sea inmediatamente superior a la de la solución estándar.

-
- (1) El disulfuro de carbono es un compuesto extremadamente inflamable con baja temperatura de ignición; por su acción tóxica deberá manipularse bajo campana con sistema efectivo de remoción de gases. Puede reaccionar violentamente con agentes oxidantes fuertes, ciertas sustancias nitrogenadas y zinc. Deberá evitarse la electricidad estática.

Nota 1. En cualquier caso, y especialmente cuando se usa FeCl_3 , se debe evitar el exceso de reactivo; sin embargo, un exceso de 0.5 cm^3 de solución al 2% de alumbre férrico puede ser agregado a 50 cm^3 de solución de comparación de ácido salicílico sin que se tengan resultados falsos.

d) Esta determinación se efectúa en duplicado.

4.6 Expresión de los resultados

4.6.1 El contenido de ácido salicílico y salicilatos alcalinos en la muestra se expresa como ácido salicílico, en porcentaje en masa, y se calcula tomando en cuenta la dilución de la alícuota tomada en 4.5 (b), la cantidad de muestra original tomada en 4.4.1 y la concentración de la solución estándar de ácido salicílico (1 mg en 50 cm^3).

4.6.2 Repetibilidad. La diferencia entre los resultados de dos determinaciones realizadas simultáneamente o en rápida sucesión por el mismo analista, no deberá ser mayor del 5% del valor medio.

4.6.3 El resultado final será la media aritmética de las dos determinaciones, siempre que el requisito de repetibilidad se haya cumplido.

5. INFORME DEL ENSAYO

En el informe del ensayo debe indicarse lo siguiente:

5.1 El método usado y el resultado obtenido en cada determinación así como la media aritmética de las determinaciones.

5.2 Cualquier condición no especificada en la norma, o señalada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido en el resultado.

5.3 Todos los detalles necesarios que permitan la completa identificación de la muestra.

6. CORRESPONDENCIA

Esta norma concuerda con los métodos descritos en:

a) "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists". 12a. edición 1975; y

b) Norma Panamericana COPANT 1161-1979.

----- Última Línea -----