

Estudio comparativo de los metodos de dosificación de los cloruros en la leche

por el Dr. E. Messner

Director del Instituto de Fisiología de la Facultad de Veterinaria

Los métodos actualmente conocidos son de muy desigual valor, en lo que se refiere a la precisión de sus resultados.

De una manera general los métodos más exactos son lentos y laboriosos, lo que los hace poco adecuados para la práctica diaria, sobre todo cuando hay que realizar numerosos análisis. Los otros, más sencillos y rápidos, son de una exactitud mucho menor.

Si se exceptúan algunos métodos evidentemente deficientes, con los restantes se pueden obtener resultados absolutamente comparables a condición de emplear siempre el mismo procedimiento. Por el contrario, cuando se emplean métodos diferentes, los resultados obtenidos discrepan sensiblemente.

Entre los autores que han hecho un estudio comparativo de los diversos métodos me limitaré a citar aquí a Kieferle y Erbacher (*Milchw. Forsch.* t. 5. 1928, p. 532).

La dificultad para dosificar cloruros en la leche reside en la riqueza de ésta en sustancias proteicas que, reaccionando con el nitrato de plata, alteran los resultados. La eliminación de las proteínas es, pues, necesaria si se quiere realizar una dosificación exacta. Los métodos volumétricos que no eliminan las proteínas (método de Mohr al cromato, con una dilución previa), son, según mi experiencia, tan deficientes, que los he dejado fuera de este estudio comparativo.

Estudiaremos, por lo tanto, en primer término, las diversas soluciones dadas al problema de eliminar la acción perturbadora de las proteínas fundándonos en nuestra experiencia personal y en datos obtenidos del estudio de la bibliografía.

1. La incineración seca

Todos los investigadores están de acuerdo en que la simple incineración de la leche trae pérdidas considerables de cloruros. Las fuentes de las pérdidas pueden ser:

- 1) Cuando la leche no está completamente desecada, el desarrollo súbito de vapor que lanza partículas de residuo seco fuera de la cápsula.
- 2) En la destilación seca, que en mayor o menor grado precede y acompaña a la incineración, pueden ocurrir también pérdidas por salpicadura.
- 3) En una incineración ya bastante avanzada, los gases de la combustión que pueden levantar hacia el aire partículas de la ceniza.
- 4) Una temperatura demasiado elevada en la calcinación que volatiliza parte de los cloruros.
- 5) Una reacción poco estudiada, descrita por Filippo y Adriani. Dichos químicos incineraron papel de filtro, empapado con solución de cloruro de sodio y pudieron comprobar una reacción pronunciadamente alcalina de la ceniza. Esta alcalinidad, al parecer, no pudo ser atribuida a la ceniza del papel solo.
- 6) Un descuido en la adición de ácido nítrico a la ceniza o al extracto de la ceniza, que puede dar lugar a la formación de ácido clorhídrico que se volatiliza (Aron: Handbuch d. Biochem. Arbeitsmethoden, 1910).

Con cuidado las pérdidas mencionadas pueden disminuirse, especialmente si se utiliza un hornillo eléctrico con regulación de temperatura para calentar la cápsula en lugar del mechero.

La incineración, previa adición de álcali o de álcali térreo, representa, siempre, una mejoría considerable. Las sustancias más a menudo utilizadas son el carbonato de sodio y el carbonato de potasio. También se preconiza la mezcla de ambos, debido a su punto de fusión más bajo. Luego, se emplean los óxidos y carbonatos de calcio y de magnesio. Finalmente, se recomienda agregar nitrato de potasio para obtener una combustión más rápida.

Schulze (Milchwirt. Zbl. 5 t. 58, 1927, p. 157), considera como método patrón (tipo), la adición de carbonato de sodio. Drost (Zeitschr. Unters. Lebensmittel, t. 49, 1925, p. 332), opina que, a pesar de la adición de soda, hay pérdida de cloruro.

En los análisis practicados por mí los resultados obtenidos con la adición de soda son más elevados que los que se obtienen con adición de álcalis térreos. La soda tiene, en cambio, la desventaja de fundirse encerrando parte del carbón, lo que a menudo obliga a extraer la ceniza con agua destilada y calcinar de nuevo.

Huelga decir que el álcali empleado debe estar exento de cloruros, pues la presencia de éstos, aún en pequeñas cantidades, hace que los re-

sultados sean demasiado elevados debido a que la leche es en sí pobre en cloruros.

Conviene emplear los bicarbonatos que, en general, son más fáciles de obtener al estado de pureza que los carbonatos.

Como método patrón provisorio he adoptado el procedimiento de incineración seca con adición de bicarbonato. He aquí algunos resultados que pueden ilustrar la diferencia que existe entre los procedimientos de incineración sin y con adición de álcali. Los resultados están expresados en miligramos de Cl por 100 ml.

Sin álcali		Con álcali		N.º de la muestra
92.2		95.7	95.7	121
93.0	93.3	100.98	101.3	224

La técnica empleada es la siguiente: a 25 ml. de leche se le agrega una prisa de bicarbonato de sodio y se colocan en una cápsula de porcelana, que debe ser chata y lo más delgada posible. Aún mejor es una cápsula de platino. La leche se evapora al bañomaría hasta que el residuo esté completamente seco, y luego se incinera en la misma cápsula a una temperatura lo más baja posible. Si la cantidad de carbón es pequeña, se puede prescindir de la extracción con agua destilada seguida de una nueva incineración.

Una vez enfriado se disuelve el residuo contenido en la cápsula con agua destilada, que se vierte en un matraz aforado de 100 ml. Para disolver la ceniza que ha quedado, se lava la cápsula con ácido nítrico, que se vierte también en el matraz.

Se agregan 25 ml. de nitrato de plata 0.04 N., 1 ml. de solución saturada de alumbre de hierro y se completa hasta el enrase con agua destilada.

Se filtra y se toman 50 ml. del filtrado, que se valoran con solución 0.04 N. de sulfocianuro.

Este método que, empleado como base para el estudio comparativo, es, sin embargo, demasiado engorroso para ser utilizado en la práctica diaria.

2. La incineración húmeda

La mineralización en solución presenta grandes ventajas sobre la incineración descrita. Por lo pronto no hay que desecar la leche, no hay que efectuar la extracción del carbón ni la consecutiva incineración. Existen dos procedimientos.

El procedimiento de Neumann oxida con una mezcla de ácido sulfúrico y ácido nítrico, destilando luego el ácido clorhídrico. A pesar de ser muy exacto, este procedimiento es poco empleado para los análisis de leche, debido, tal vez, a que la destilación se considera complicada.

El segundo procedimiento es inspirado en el método de Carius, que destruye la substancia orgánica por el ácido nítrico, calentando en tubo cerrado. Dado que, a temperaturas que no pasan mucho de 100° y estando los cloruros fijados al estado de cloruro de plata, no hay volatilización de HCl, Koranyi (Z. Klin. Med., 1897) e independientemente Moraczewski (Z. f. Physiol. Chem., 1897), propusieron calentar en matraz abierto, lo que vuelve el método mucho más cómodo.

Esta técnica, indicada para la orina (Koranyi) y para la sangre (Moraczewski), fué adoptada para la leche por Zaribnicky (Milchw. Zentrbl., 1924) y más tarde, algo modificada, por Biskup (Milchw. Forsch., 1926), por Davies (The Analyst, 1932) y por Massot y Lœstra (Le Lait, 1936).

Zaribnicky recomienda el método en esta forma: en un Erlenmeyer de Jena coloca 10 ml. NO_3H de 1.40 de peso específico, luego 5 ml. de 0.1-n NO_3Ag , medidos con bureta, con división al vigésimo ml., luego 5 ml. de leche, medida con pipeta de dos engrases. Calienta hasta la ebullición, agrega solución de permanganato en porciones de 1 a 2 ml. Al persistir el color del permanganato se considera la oxidación como terminada. Zaribnicky dice permanganato al 10 %, pero a 15° y a 25° se obtienen solamente soluciones al 5 y 7 %, respectivamente. El exceso de permanganato lo elimina con un poco de solución de glucosa. Enfríada la solución la valora con 0.1-n sulfocianuro sin filtración.

La técnica de Biskup no difiere esencialmente de la de Zaribnicky.

3. La desalbuminación

El tercer grupo de procedimientos, que tiene también muchos partidarios, precipita las proteínas y luego opera en el filtrado, empleando generalmente la valoración según Volhard. Los métodos de defecación son numerosos: alcohol, alcohol acetona, ácido nítrico, ácido metafosfórico, ácido tricloracético, ácido sulfosalicílico. Es necesario que la eliminación de las proteínas sea completa. En este sentido el alcohol deja mucho que desear; además, la filtración es muy lenta. Es conveniente diluir mucho la leche; si no se procediera así, debe tenerse en cuenta el volumen del precipitado. Con el precipitado albuminoideo es arrastrada también la grasa. Finalmente, debe controlarse la ausencia de halógenos en los reactivos precipitantes, especialmente en el ácido tricloracético. El hierro coloidal, muy usado en la defecación de la sangre, no sirve para la determinación de los cloruros, puesto que parece ser preparado por diálisis del cloruro férrico y contiene grandes cantidades de cloruro.

4. Los métodos rápidos

Entre los métodos rápidos que conocemos, el único digno de ser comparado es el de Drost (Z. f. Unters. d. Nahrungs. u. Genussm., t. 49, 1925,

p. 232), en la modificación de Schulze (Milchwirtsch. Zbl., t. 58, 1927, p. 157), porque sin mineralización y sin separación de las proteínas obtiene resultados bastante exactos. El método podría llamarse de compensación, dado que el error por exceso, debido a las proteínas, se compensa por un déficit más o menos de la misma magnitud a causa de la reacción entre el cloruro de plata y el sulfocianuro de hierro. Que las proteínas fijan plata al ser puestas en contacto con una solución de nitrato de plata quedó bien demostrado por Kleiferle y Erbacher (l. c.), van der Burg y Koppejan (Le Lait, 1924), Graaff, luego Husband, Dudled y Godden (Biochem. J., 1927) y Hammer y Bailey.

La dificultad del método Drost-Schulz está en el viraje poco nítido. Esperando unos segundos el color rojo desaparece. Hay autores que piden una persistencia de unos cuantos minutos como punto final. Así casi siempre son necesarias tres determinaciones, con lo que el procedimiento deja de ser rápido. Mi experiencia es que un mismo operador puede obtener resultados concordantes, aunque con cierta dificultad, cuando de un análisis al otro pasan unos cuantos días. Las discrepancias entre dos operadores generalmente son grandes a causa de la imprecisión del punto final. Frente al método de la mineralización por vía húmeda, casi siempre hay una diferencia de algunos miligramos de Cl por 100 ml., pero no son siempre del mismo sentido.

5. La técnica recomendada

El procedimiento más satisfactorio, también excelente para las leches decloruradas, es el de Koranyi-Moraczewski con algunas pequeñas modificaciones.

a) Leche colectiva

En un frasco Erlenmeyer de 250 ml. se colocan 25 ml. de la solución n/25 de plata, que contiene además el ácido nítrico. Esta solución tiene la composición siguiente:

Nitrato de plata, desecada 48 horas en el desecador ..	6'7956 g.
Agua destilada	250 ml.
Se agita hasta la disolución del nitrato de plata, luego se adicionan:	
Acido nítrico concentrado (densidad = 1'4) hasta	1000 ml.

El ácido nítrico debe ser absolutamente exento de ión halógeno. Con la adición del ácido nítrico la solución se calienta; es, pues, necesario esperar hasta el enfriamiento completo y enrasar nuevamente con ácido nítrico.

Luego se añaden 25 ml. de la leche y 150 ml. de la sol. saturada de permanganato. Se calienta en baño de arena, de vez en cuando se

agita. El permanganato produce un precipitado pardo casi negro. Se sigue calentando hasta la desaparición completa de dicho precipitado. Si excepcionalmente no se logra la decoloración del líquido, agréguese un poco de azúcar. Generalmente la cantidad de permanganato indicada no alcanza para la combustión total de la grasa. Puesto que un poco de grasa no quemada no esterba la valoración, la operación se considera terminada, cuando se presenta el Cl Ag bien conglomerado en un líquido casi incoloro.

Una vez enfriado el líquido, se le agregan 2 ml. de solución saturada de alumbre de hierro y luego agua destilada hasta llegar cerca de un volumen total de 200 y se valora con sulfocianuro de amonio al 0'04 n.

No conviene la filtración, puesto que esta técnica requiere un matraz aforado y llevar luego el líquido con agua destilada a la marca, resultando un enrase difícil por causa de la grasa. El Cl Ag gracias al calentamiento prolongado, forma un precipitado grumoso pesado, que presenta una superficie insignificante a la disolución y no hay reacción apreciable con el sulfocianuro de hierro. Por la misma razón, tampoco hay necesidad de agregar éter, tolueno, etc., para la conglomeración del Cl Ag . El viraje, debido a la presencia de gran cantidad de ión férrico, es de gran nitidez y el color rojizo persiste durante mucho tiempo. La adición de alcohol para disminuir la disociación del sulfocianuro, por consecuencia, tampoco es necesaria. Los resultados son exactamente reproducibles por diferentes operadores.

Cuando se hayan gastado a ml. de la solución de sulfocianuro, la leche contiene $(25 - a) \cdot 4 \cdot 1'4183 = (25 - a) \cdot 5'6732$ mg. de anión cloruro por 100 ml.

El alumbre de hierro (sulfato doble de amonio y hierro trivalente), el sulfocianuro y el permanganato potásico deben analizarse respecto a la ausencia de cloruros.

Para obtener la solución n/25 de sulfocianuro se prepara una más concentrada y luego se ajusta contra la solución de plata. Es imposible la preparación directa por simple pesada, a causa de que esta sal es muy higroscópica. La solución no se altera. Al valorar la plata no combinada, la adsorción de sulfocianuro amónico por el sulfocianuro de plata causa un consumo algo mayor de la solución valorada. Pero gracias al hecho de que la solución de sulfocianuro se ajusta contra una solución n/25 de nitrato de plata, la adsorción mencionada no produce un error sensible.

He ensayado, también, la fluoresceína como indicador de adsorción. No pude ver ninguna ventaja sobre el método clásico de Volhard.

b) Leche de cuarterón

La leche de cuarterón puede contener hasta más de 300 mg. de Cl por 100 ml., es pues necesario, sea aumentar la cantidad de plata, sea disminuir la cantidad de leche. En vista de que las muestras de leche

de cuarto a menudo son de poco volumen, es preferible disminuir la leche.

10 ml. de la leche se agregan a 25 ml. de la solución de plata. El resultado se calcula $(25 - a) 10 \cdot 1'4183$ mg. Cl por 100 ml.

Con las cantidades siguientes marcha bien como semi micrométodo: a 1 ml. de leche se agregan 2'5 ml. de la solución de plata. Se usan pipetas y buretas especiales, las más cómodas son las que tienen la faja de Schellbach, una línea azul sobre una faja blanca. Siempre que fuera posible háganse dos dosificaciones.

La adición de permanganato es de 40 ml. en el macrométodo y de 4 ml. en el semi-micrométodo.

c) Leche declorurada

50 ml. de leche y 50 ml. de la solución de plata en un Erlenmeyer de 500 ml. de capacidad; permanganato 200 ml.

Resumen

A la base de la literatura y apoyado en experimentos propios se comparan diversos procedimientos del dosado de los cloruros en la leche.

Como método rápido se acepta únicamente el de Drost-Schulz; sin embargo, debido a la inseguridad del punto final se prefiere, siempre que el tiempo disponible lo permita, el método de Koranyi-Moraczewski-Zaribnicky. Se recomiendan pequeñas modificaciones.

Zusammenfassung

Auf Grund der Angaben im Schrifttum und an Hand eigener Versuche werden verschiedene Verfahren zur Chloridbestimmung in der Milch besprochen.

Als einziges brauchbares Schnellverfahren wird das von Drost-Schulz anerkannt. Wegen der Unsicherheit des Endpunkts wird allerdings, falls die verfügbare Zeit es gestattet, dem Verfahren von Koranyi-Moraczewski-Zaribnicky der Vorzug gegeben. Auch werden kleine Abänderungen empfohlen.