

180



DETERMINACION VOLUMETRICA DE AZUCARES REDUCTORES
POR MEDIO DE LA SAL DISODICA DEL ACIDO ETILENDIAMINO
TETRACETICO Y SU ESTUDIO COMPARATIVO CON OTROS METODOS

INSTITUTO MEXICANO DE INVESTIGACIONES QUIMICAS

HELDA QUINTANILLA PALMA

MEXICO, D. F.

1957



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

3 Hojas
1 Hoja con 3 esquemas.

61(66)

Escuela Nacional de Ciencias Químicas

U.N.A.M.

- Determinación Volumétrica de Azúcares Reductores por Medio de la Sal Disódica del Acido Etilendiamino Tetracético y su Estudio Comparativo con otros Métodos.

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACOBIOLOGO

p r e s e n t a :
HELDA QUINTANILLA PALMA

México, D. F.

1957



A la memoria de mi adorado padre:

Capitán de Altura Manuel C. Quintanilla y E.

A mi querida mamá con gratitud y cariño.

Con agradecimiento a mis maestros:

Ing. Quím. Guillermo Hernández.

Ing. Quím. Othón Canales.

por su cooperación para la realización de
este trabajo.

A mis maestros.

A mis amigos.

CAPITULOS .-

Introducción.

I.- Generalidades.

II.- Métodos para determinar azúcares reductores .

III.- Método propuesto.

IV.- Parte experimental y cuadro analítico.

V.- Conclusiones.

VI.- Bibliografía.

INTRODUCCION.-

La realización de esta tesis, se llevó a cabo con el fin de dar a conocer un método más para la determinación de azúcares reductores.

Para el efecto se hicieron una serie amplia de ensayos con el objeto de que los resultados obtenidos, fueran los más cercanos a la realidad; de tal modo que lo ideal fué relacionar las experiencias realizadas de otros dos métodos con el propuesto, y así poder obtener y comparar ciertos datos importantes, sin los cuales no sería posible deducir conclusiones.

CAPITULO I

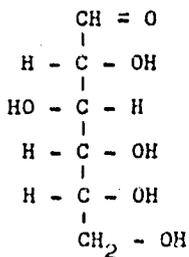
GENERALIDADES .-

Hay dos clases de azúcares: reductores y no reductores.

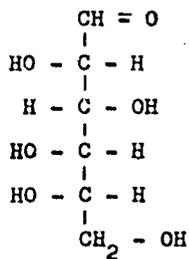
Entre los últimos el más importante es la sacarosa, $C_{12}H_{22}O_{11}$

Entre los reductores el más importante es la glucosa, $C_6H_{12}O_6$
encontrándose también la levulosa, xilosa y disacáridos como la --
maltosa y la lactosa.

Las fórmulas de cadena abierta de la d. y l. Glucosa son las
siguientes:



d. Glucosa



l. Glucosa

EL EFECTO DEL LICOR DE FEHLING SOBRE LOS AZUCARES REDUCTORES

Cuando la glucosa, levulosa y manosa se someten a la acción de un álcali en solución acuosa, los tres azúcares sufren una conversión mutua hasta que se establece un equilibrio.

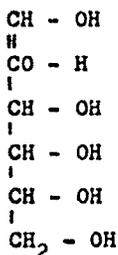
El mecanismo de la reacción fué estudiado por Nef, y demostró que una hexosa en presencia de una solución alcalina se convierte en 1.2 enediol (I). Al añadir agua al enediol, éste puede unirse de tres diferentes maneras; el hidroxilo puede insertarse en un carbono final dando el grupo aldehído; el hidrógeno se inserta en el segundo átomo de carbono por ruptura de cualquiera de las ligaduras dando alguna de las dos aldosas, o el hidrógeno puede insertarse en el segundo átomo de carbono y dar con eliminación de agua, la cetosa ó. glutosa.

Con una acción más prolongada del álcali los enediones toman la posición 2.3(II) y 3.4(III) hasta llegar a la forma de cetosa conocida por el nombre de glutosa, que es un azúcar reductor pero no fermentecible .

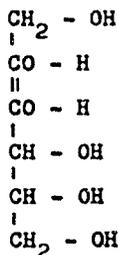
Wolfson y Lewis trabajando con la tetrametil-glucopiranosa observaron que el equilibrio real se establecía aparentemente entre la glucosa y la manosa pero que no se formó ninguna cetosa.

Con estas bases consideraron que la reacción consistía en una simple enolización y regeneración del grupo carbonilo resultando:

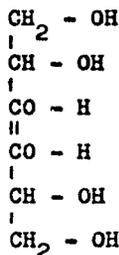




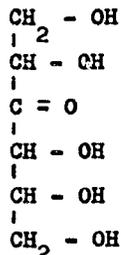
(I)



(II)



(III)



En la presencia de agentes oxidantes tales como las sales -- cúpricas en soluciones alcalinas, los enedíoles son reductores y - pueden tomar oxígeno a expensas del cobre reduciéndolo a óxido cuproso.

De acuerdo con la teoría de Nef, ocurre una disociación momentánea en la posición de la doble ligadura y cada fragmento toma oxígeno para dar el correspondiente hidroxil-ácido.

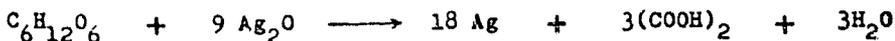
Como el enediol puede estar al tiempo de romperse la molécula en la posición 1.2, 2.3, 3.4, y como los hidroxilos pueden haber alterado su posición relativa, el número de ácidos diferentes- producidos es grande.

CAPITULO II

MÉTODOS PARA DETERMINAR
AZÚCARES REDUCTORES .-

El principal método químico para la determinación de azúcares reductores, está basado en la propiedad que tienen todos los aldehídos y cetonas para reducir soluciones alcalinas de ciertas sales metálicas.

En el caso de la plata y glucosa por ejemplo, es como sigue, si la reacción se ha hecho con cuidado:



Si el peso de la plata reducida es determinada en esta reacción, la cantidad de glucosa puede ser fácilmente encontrada.

Pero desafortunadamente la acción reductora de los azúcares sobre las sales metálicas, no procede con la misma precisión cualitativa que en la reacción arriba mencionada, sino que la cantidad de metal reducido varía según las condiciones en que se haya hecho

el experimento, siendo la reacción rara vez completa.

En la práctica se evita esta dificultad controlando el proceso, de modo que siempre se obtenga el mismo peso de metal reducido para la misma cantidad de azúcar.

En análisis de azúcar, generalmente se emplean las soluciones alcalinas de cobre.

PRIMEROS METODOS SOBRE EL COBRE REDUCIDO:

El primer dato sobre análisis de azúcares reductores, se remonta al año 1815, cuando Vogel demostró que el precipitado rojizo que se obtenía al hervir acetato de cobre con miel, no era de cobre metálico como había supuesto previamente, sino óxido cuproso.

Trommer en 1841, fué el primero en valorar la solución alcalina de CuSO_4 como medio para distinguir el azúcar de uva del de caña.

El método de Trommer fué mejorado en 1844 por Barreswiell -- que hizo un importante descubrimiento con la adición de tartrato de potasio sobre la sal de cobre aumentando así mucho su estabilidad. Este método es volumétrico.

La solución de azúcar fué añadida poco a poco al reactivo de cobre hirviendo, que ha sido previamente estandarizado con glucosa pura hasta que el color azul desaparezca.

En 1849 H. Fehling trabajó con gran cuidado en los detalles del método, encontrando algunos equivalentes estequiométricos. Fehling creía que 1 mg. de glucosa reducía 5 equivalentes de cobre, -- sin reconocer que la reacción es cuantitativa únicamente entre límites de corrección en temperatura y tiempo.

La solución de Fehling contenía 40.00g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 160g - de tartrato neutro de potasio y de 600-700g de solución de sosa de 1.12 de peso específico y disueltos en agua (1154.4 ml.), soluciones A y B.

Esto equivale a 34.65 de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 1000 ml. -- que es la proporción usada por casi todos los investigadores hasta la fecha.

La mezcla tiene el color azul intenso propio de las sales alcalinas de cobre. El método de Fehling se puede llevar a cabo en varias formas que son otras tantas modificaciones al método original y que pueden ser volumétricas, gravimétricas, electrónicas, -- colorimétricas.

Una de estas técnicas consiste en mezclar cantidades iguales de las soluciones A y B y titular la mezcla hirviendo con la solución problema hasta la desaparición del color azul.

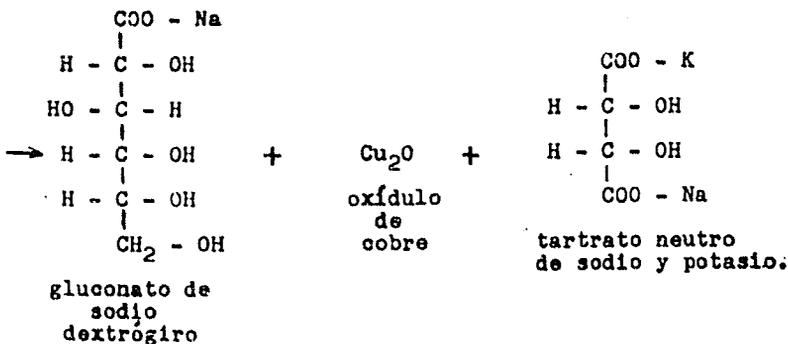
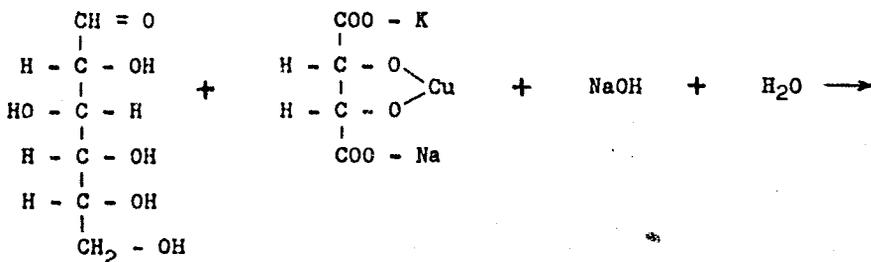
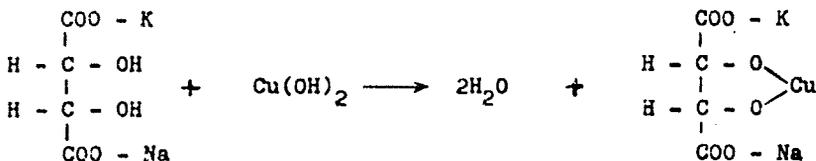
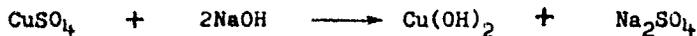
Como en la reacción se forma un precipitado rojizo de óxido-cuproso, debe esperarse después de cada adición de solución problema hasta que se asiente el precipitado y observarse el líquido que sobrenada.

Para distinguir mejor el vire de la solución, se ha sugerido usar como indicador azul de metileno, cuyo color es más intenso -- que el de la solución cúprica y que se reduce al leucocompuesto -- incoloro al pasar el punto de equivalencia.

Además del reactivo de Fehling, se encuentra otro muy conocido, el de Benedict, que es una solución de sulfato cúprico en álcali, (Na_2CO_3), en presencia de citrato sódico, que mantiene el óxi-

do cúprico en disolución.

Las reacciones que tienen lugar en la oxidación por medio de la solución de Fehling, son extremadamente complejas.



METODO VOLUMETRICO GENERAL DE LANE-EYNON.-

Es un método empírico y por lo tanto se necesita seguir con precisión para que sirvan los análisis. Está basado en la reducción total del ion cúprico a cuproso por medio del reactivo de Fehling-Soxhlet's.

REACTIVOS:

A) Solución de sulfato de cobre.

Disolver 34.639g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua, aforar a 500 ml. y filtrar a través de asbestos preparados.

B) Solución alcalina de tartrato.

Disolver 173g de sal de La Rochela y 50g de hidróxido de sodio en agua, aforar a 500 ml. y dejar reposar dos días, filtrar a través de asbestos preparados.

ESTANDARIZACION Y METODO DE TITULACION:

Pipetear exactamente 10 ó 25 ml. de la mezcla de Soxhlet's, o 5-25 ml. de cada una de las soluciones Soxhlet's A y B en un matraz de 300-400 ml. de capacidad. La cantidad de cobre tomada diferenciará ligeramente entre los dos métodos de pipeteo, y el método usado pueda ser llevado a cabo firmemente durante la estandarización y determinación.

Preparar una solución estándar de azúcar pura a tal concentración que más de 15 y menos de 50 ml. sean requeridos para reducir todo el cobre.

La titulación puede ser calculada como sigue:

Factor

mg. de azúcar en 1 ml.-

Agregar casi toda la solución de azúcar requerida para el efecto de la reducción de todo el cobre, así que no más de 0.5 a 1 ml. sean requeridos más tarde para completar la titulación.

Se calienta la mezcla fría hasta la ebullición sobre una tela metálica y se mantiene por dos minutos con flama pequeña para evitar que estalle. Se quita de la flama y se agregan 2-5 gotas de solución acuosa al 1% de azul de metileno, y completar la titulación dentro de la ebullición en un tiempo total de tres minutos, por adiciones pequeñas de la solución de azúcar hasta la decoloración del indicador.

Multiplicando la lectura por el número de miligramos en 1 ml. de la solución estandar, se obtiene el factor. Comparar el factor con la tabla y hacer la corrección.

Pequeñas desviaciones en los factores tabulados pueden provenir de determinaciones individuales procedentes de la composición de los reactivos.

DETERMINACION:

Si la concentración aproximada del azúcar problema se desconoce, procedemos al método incremental de titulación.

Se añaden de 10 a 25 ml. de solución Soxhlet's, 15 ml. de la solución de azúcar y calentar cerca de la ebullición sobre tela de alambre. Después de 15 segundos, añadir rápidamente más cantidades de solución de azúcar hasta que sea perceptible levemente el co-

lor azul. Entonces añadir 2-5 gotas de la solución de azul de metileno y completar la titulación por adición de la solución de azúcar gota a gota.

Para mayor precisión repetir la titulación añadiendo casi toda la cantidad de azúcar requerida para reducir todo el cobre.

En la tabla I se encuentra el factor correspondiente a la concentración.

METODO DE BENEDICT.-

Solución de Benedict:

Disolver 16g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 125-150 ml. de agua.

Disolver 150g de citrato de sodio, 130g de carbonato de sodio(anhidro) y 10g de bicarbonato de sodio en cerca de 650 ml. de agua, y acelerar el calentamiento de la solución.

Combinar las dos soluciones agitando, enfriar, llevar a 1 lt. y filtrar.

DETERMINACION:

Traspasar 20 ml. del reactivo de cobre a un matraz Erlenmeyer de 300 ml. y adaptar un tapón de hule con dos orificios.

Añadir 10 ml. de la solución de azúcar conteniendo menos de 20 mg. de azúcar reductor. Colocarle cerca de una flama, llevar a -

ebullición en 4 minutos y continuarla por 3 minutos exactamente, - (las condiciones aproximadas son: flama cónica de 50mm por 20mm, - placa de asbesto de 30mm sobre un mechero, si se prefiere una placa con calor eléctrico puede ser usada, en cualquiera de los casos un período de 5 minutos es requerido para llevar al punto de ebullición a la solución.)

Pasados los 3 minutos de haber empezado la ebullición, enfriar la solución rápidamente colocando el matraz en un recipiente con agua fría.

Añadir 100 ml. de solución de ácido acético (24 ml. de ácido acético glacial por litro) y traspasar una cantidad moderada de solución de Yodo 0.04 N. exactamente. Añadir 25 ml. de HCl (60 ml. - por litro) con una pipeta puesta contra la orilla del matraz y agitando para que se distribuya rápidamente el ácido; agitar por un minuto la solución de cloruro cuproso.

Titular el exceso de Yodo con solución de tiosulfato 0.04 N. usando como indicador una solución de almidón.

Para menor cantidad que 20 mg. de azúcar, cada ml. de tiosulfato representará una cantidad constante de azúcar; para glucosa - aproximadamente 1.12 mg. por ml.

**FACTORES PARA 10ml DE SOLUCION SOXHLET'S USADOS EN
CONEXION CON EL METODO VOLUMETRICO GENERAL DE
LANE-EYNON**

TABLA (1)

TITULACION(cc)	FACTOR	TITULACION(cc)	FACTOR	TITULACION(cc)	FACTOR
15	49.1	27	49.9	39	50.6
16	49.2	28	50.0	40	50.6
17	49.3	29	50.0	41	50.7
18	49.3	30	50.1	42	50.7
19	49.4	31	50.2	43	50.8
20	49.5	32	50.2	44	50.8
21	49.5	33	50.3	45	50.9
22	49.6	34	50.3	46	50.9
23	49.7	35	50.4	47	51.0
24	49.8	36	50.4	48	51.0
25	49.8	37	50.5	49	51.0
26	49.9	38	50.5	50	51.1

CAPITULO III

METODO PROPUESTO.

Potterat y Ischmann han demostrado que la determinación de azúcares reductores puede ser mejorada substituyendo el ácido cítrico o tartárico por el ácido etilen diamino tetracético (EDTA), como el agente complementario usado para estabilizar la solución alcalina de cobre.

La gran precisión resultante de esta modificación viene a dar la aceptación oficial de las soluciones de cobre alcalinas EDTA por Swiss Food Control Laboratories.

El siguiente procedimiento hace uso de una solución alcalina de cobre de reconocida reacción superior y más adelante incorpora una titulación de EDTA para la determinación de la cantidad de óxido cuproso formado de la azúcar problema.

Reactivos:

Solución 0.02 molar EDTA.

Disuelve 7.446g de disodio etilen diamino tetracético debi-

tratado en agua y se lleva exactamente a 1 litro.

Solución alcalina de cobre EDTA.

Disolver 37.22g de disodio etilen diamino tetracético dehidratado en un poco de agua, agréguese 286g de carbonato de sodio decahidratado. Cuando la solución esté completa agréguesele 25g de sulfato de cobre pentahidratado disuelto en un poco de agua, mézclase bien y disuélvase en 1 litro.

Otros reactivos:

Polvo indicador de murexida (1g del indicador triturados con 100g de NaCl), ácido nítrico molar y amoníaco acuoso molar.

PROCEDIMIENTO:

Pipetear exactamente 10ml. de la solución alcalina de cobre - EDTA dentro del matraz combinado filtro-reflujo y después agréguese 10 ml. de la solución de la muestra de azúcar conteniendo de 2.5-3.5 mg. de azúcar reductor. Introdúzcase 1 o 2 cuentas de vidrio de 8mm. en el aparato, conéctese el condensador y sosténgase el aparato sobre el aro de vidrio y la hoja de asbesto como lo muestra el dibujo "A".

Hiérvase y déjese el reflujo durante 10 min., al final de este tiempo párese la reacción agregándose 25 ml. de agua fría destilada a través del tubo condensador y fíltrese la solución succionando a través del disco poroso lateral.

Lavar el óxido de cobre bien con agua estando seguro de enjuagar los lados del matraz.

Disolver el precipitado de óxido cuproso tratándolo con 5 a 10 ml. de ácido nítrico molar, recoger el filtrado y los residuos-

en un matraz de filtro cónico de 250 ml. ,lavar el filtrado bien - con agua y agréguese 20 ml. de amoníaco acuoso molar (la solución - debe estar clara), agregar 10 ml. de agua, 10 - 30 mg. de murexida y finalmente titular con solución 0.02 molar de EDTA hasta que el - indicador cambie a color azul.

Calcúlese la concentración de azúcar reductor con la ayuda -- de la tabla II.

COMENTARIOS:

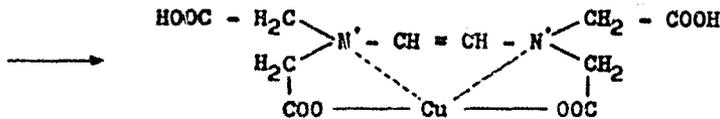
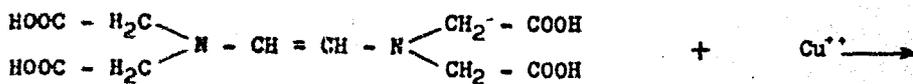
Los factores dados en la tabla II, fueron obtenidos de los - análisis de soluciones de azúcares puros.

El volumen de la solución EDTA requerido es equivalente a la cantidad de óxido cuproso precipitado, sin embargo, es fácilmente - reconocido que el precipitado de óxido cuproso de una solución al - calina de cobre por reducción con azúcares, no es estequiométrica

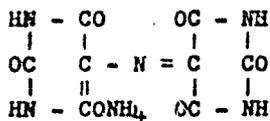
El uso del aparato del dibujo "A" no es obligatorio y exelen - tes resultados han sido obtenidos con el equipo usual del laborato - rio, como lo muestra el dibujo "B". Sin embargo la combinación fil - tro-reflujo, elimina un número de cambios de la mezcla en reacción reduciendo pérdidas.

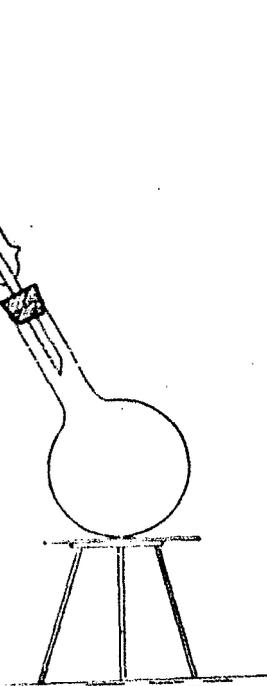
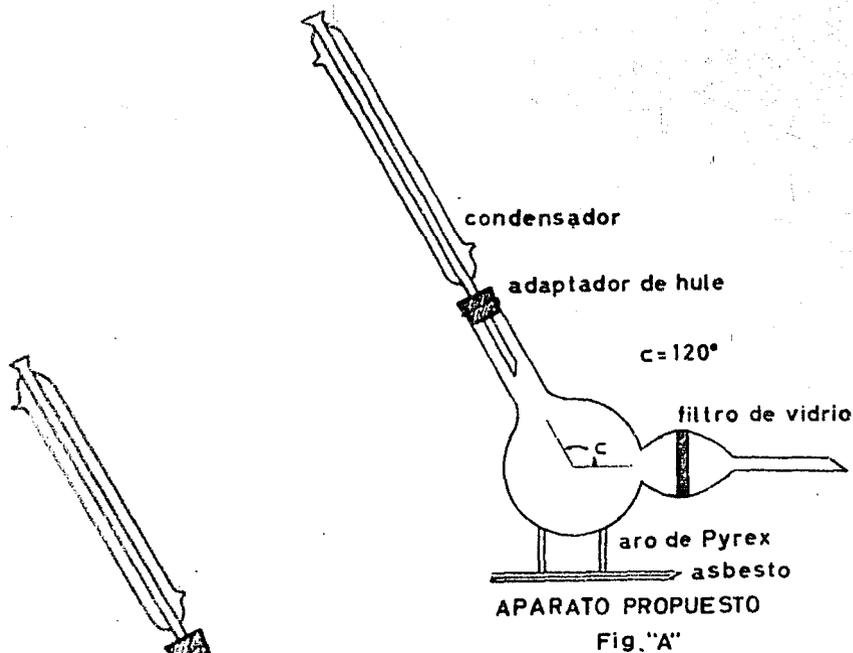
Las reacciones que se verifican son las siguientes:

El agrupamiento carbanilo sufre una reducción pasando a car - binol, esta oxidación produce a su vez una reducción de la sal de - cobre formándose Cu_2O , éste se disuelve en HNO_3 y reacciona con el versenato en la siguiente forma:



La fórmula del indicador usado es la siguiente:





APARATO USADO
Fig. "B"



**FACTORES EMPIRICOS PARA LA DETERMINACION
DE AZUCARES REDUCTORES
(x=ml.de solucion 0.02 molar requeridos en la titulaci3n)**

TABLA (2)

MILIGRAMOS DE AZUCAR

VARIANTES DE (X)	GLUCOSA	FRUCTOSA	LACTOSA ANH.	MALTOSA ANH.
2.5 a 5.0	$0.736X + 0.24$	$0.700X + 0.52$	$1.000X + 0.09$	$0.921X + 0.27$
5.0 a 10.0	$0.756X + 0.14$	$0.742X + 0.31$	$1.009X + 0.05$	$0.921X + 0.27$
10.0 a 15.0	$0.783X - 0.11$	$0.783X - 0.11$	$1.041X - 0.28$	$0.971X - 0.72$
15.0 a 20.0	$0.803X - 0.42$	$0.803X - 0.42$	$1.077X - 0.82$	$0.997X - 0.61$
20.0 a 25.0	$0.822X - 0.80$	$0.822X - 0.80$	$1.087X - 1.01$	$1.018X - 1.03$
25.0 a 30.0	$0.838X - 1.20$	$0.838X - 1.20$	$1.094X - 1.20$	$1.074X - 2.44$
30.0 a 35.0	$0.901X - 3.07$	$0.901X - 3.07$	$1.094X - 1.20$	$1.110X - 3.52$
35.0 a 40.0	$0.946X - 4.66$	$0.946X - 4.66$	$1.180X - 4.20$	$1.165X - 5.44$

CAPITULO IV

VERSEMATO						BENEDICT						FENLING					
mg de Glucosa	Lecturas	Resultados	Errores %	Error Max.	Error Min.	mg de Glucosa	Lecturas	Resultados	Errores %	Error Max.	Error Min.	ml. de sol. Soxhlet's	Lecturas	Resultados	Errores %	Error Max.	Error Min.
2.5	3.50	2.81	12.6	Max. 33.3 Min. 12.6		2.5				Max. 25.4 Min. 23.2							
	4.00	3.18	27.4				7.25	3.08	23.2								
	4.15	3.24	29.8				7.20	3.13	25.4								
	4.20	3.31	33.3				7.20	3.13	25.4								
	4.00	3.18	27.4														
5.0	5.00	3.92	-21.6	Max. 21.6 Min. 18.5		5.0				Max. -36.1 Min. -31.2							
	5.05	3.95	-20.9				7.15	3.19	-36.1								
	5.15	4.03	-19.1				7.00	3.36	-32.8								
	5.20	4.07	-18.5				6.90	3.47	-31.2								
	5.20	4.07	-18.5														
10.0	10.50	8.11	-18.9	Max. -19.3 Min. -18.1		7.5				Max. -38.7 Min. -38.2							
	10.45	8.07	-19.3				5.85	4.64	-38.2								
	10.55	8.15	-18.5				5.90	4.59	-38.7								
	10.55	8.15	-18.5				5.85	4.64	-38.2								
	10.60	8.18	-18.1														
15.0	16.25	12.62	-15.8	Max. -16.4 Min. -15.5		10.0				Max. -38.4 Min. -37.8							
	16.15	12.54	-16.4				4.50	6.16	-38.4								
	16.20	12.58	-16.1				4.45	6.21	-37.8								
	16.30	12.68	-15.5				4.45	6.21	-37.8								
	16.25	12.62	-15.8														
20.0	21.70	17.03	-14.8	Max. -15.2 Min. -14.8		15.0				Max. -43.2 Min. -42.1							
	21.65	16.99	-15.1				2.40	8.51	-43.2								
	21.60	16.95	-15.2				2.30	8.62	-42.5								
	21.65	16.99	-15.0				2.25	8.68	-42.1								
	21.70	17.03	-14.8														
25.0	23.50	18.49	-26.1	Max. -26.4 Min. -25.4		20.0				Max. -50.4 Min. -49.0							
	23.40	18.40	-26.4				0.90	10.19	-49.0								
	23.60	18.57	-25.7				1.00	10.08	-49.1								
	23.65	18.67	-25.4				1.15	9.91	-50.4								
	23.65	18.67	-25.4														
30.0	28.50	23.68	-21.1	Max. -24.5 Min. -21.1								10.0					
	28.45	22.64	-24.5										49.0	51.0	4.07	Max. 8.51	
	28.60	22.76	-24.1										47.0	51.0	8.51	Min. 4.07	
	28.65	22.80	-23.9										48.5	51.0	5.16		
	28.65	22.80	-23.9														
35.0	31.20	25.04	-20.4	Max. -29.4 Min. -28.2								12.0					
	30.80	24.68	-29.4										49.8	51.0	2.42	Max. 2.42	
	31.25	25.08	-28.2										49.9	51.0	2.10	Min. 2.10	
	31.06	24.86	-28.9										50.0	51.1	2.20		
	31.15	24.99	-28.5														

CAPITULO V

CONCLUSIONES.-

Por los trabajos realizados en esta tesis, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

a) El método de Benedict no puede considerarse muy exacto, ya que los errores de una amplia serie de experiencias, todas practicadas en condiciones semejantes y observando las precauciones posibles, son considerables.

b) El método de Lane-Eynon en su modificación Fehling-Soxhletés es el más exacto y a la vez el más rápido, pues los errores obtenidos son inferiores a los de otros métodos.

c) En el método propuesto se observó que los errores son superiores a los obtenidos por el método de Lane-Eynon, el mecanismo es más complicado, lo cual, en plan de experimentación resulta molesto, requiere más tiempo para su determinación y el precio es elevado, pero se puede prescindir de estos detalles en sustitución del Benedict.

CAPITULO VI

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA .-

1.- Chemist Analyst

J.T.Baker Chemical Co.

Phillipsburg, New. Jersey

Vol. 45 Nº 1 March. 1956

Pags. 5-6

2.- Methods of Analysis

A.O.A.C

5ª edición 1940

Pags. 488-499

3.- Harrow

Tratado y Prácticas de Bioquímica

1950 Pags 17

4.- Winton y Winton

The analysis of foods

Pags. 170-202

5.- Sumner and Somers

Laboratory Experiments in Biological Chemistry

1949

6.- Fieser and Fieser

Química Orgánica

1948 Pag. 347

7.- Brown and Zerban

Physical and Chemical

Methods of Sugar Analysis

3^a edición 1941