



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION DE PLOMO EN REFRESCOS ENLATADOS

T E S I S

Que para obtener el título de:

Q U I M I C O

P r e s e n t a :

HERLINDA BOLAÑOS ESPARZA

México, D. F.

1962



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

I N D I C E

I	I N T R O D U C C I O N	1
II	G E N E R A L I D A D E S	2
II.1	C A R A C T E R I S T I C A S G E N E R A L E S	2
II.2	M E T O D O S A N A L I T I C O S P A R A L A D E T E R M I N A C I O N D E T R A Z A S D E P L O M O	7
II.3	D I T I Z O N A	11
II.3.1	A S P E C T O S G E N E R A L E S	
II.3.2	S O L U B I L I D A D	
II.3.3	P R O P I E D A D E S E S P E C T R A L E S	
II.3.4	E Q U I L I B R I O S D E L A D I T I Z O N A	
II.3.5	O X I D A C I O N	
II.3.5.1	P r o d u c t o s d e O x i d a c i ó n	
II.3.5.2	E s t a b i l i d a d d e l a s s o l u c i o n e s d e d i t i z o n a	
II.4	D I T I Z O N A T O S M E T A L I C O S	19
II.4.1	E S T R U C T U R A	
II.4.2	M E T A L E S Q U E F O R M A N D I T I Z O N A T O S	
II.4.3	S O L U B I L I D A D	
II.4.4	P R O P I E D A D E S E S P E C T R A L E S	

II.4.5	VELOCIDAD DE EXTRACCION	
II.4.6	SELECTIVIDAD	
II.4.7	FUENTES DE ERROR EN LAS DETERMINACIONES CON DITIZONA	
II.5	DETERMINACION FOTOMETRICA DE PLOMO	28
II.5.1	ASPECTOS GENERALES	
II.5.2	METODOS DE DETERMINACION	
II.5.2.1	Método de monocolor	
II.5.2.2	Método de colores mezclados	
II.5.2.3	Método de reversión	
II.5.3	CONDICIONES DE EXTRACCION	
II.5.3.1	Acidez	
II.5.3.1.1	Extracción de ditizonatos de medio fuertemente básico	
II.5.3.2	Agentes acomplejantes	
II.5.3.2.1	Cianuro	
II.5.3.2.2	Citrato	
II.5.3.2.3	Tartrato	
II.5.3.3	Agentes reductores	
II.5.3.4	Solventes	
II.5.3.5	Material utilizado en las extracciones	
II.5.4	INTERFERENCIAS	
II.5.4.1	Aniónicas	
II.5.4.2	Catiónicas	
II.5.4.2.1	Eliminación de bismuto	
II.5.4.2.2	Eliminación de estaño	
II.5.5	EQUILIBRIOS DURANTE LA EXTRACCION	

II.6	EFFECTOS TOXICOLOGICOS DEL PLOMO Y FACTORES QUE INFLUYEN EN SU TOXICIDAD	53
II.7	REGULACIONES EXISTENTES	56
III	P A R T E E X P E R I M E N T A L	60
III.1	MATERIAL	60
III.2	REACTIVOS: PURIFICACION Y PREPARACION	61
III.3	METODO	64
II.3.1	CASOS ESPECIALES EN LOS QUE FUE NECESARIO MODIFICAR EL METODO	
IV	R E S U L T A D O S	69
IV.1	CURVA DE CALIBRACION	70
IV.2	MUESTRAS	71
V	C O N C L U S I O N E S	78
VI	B I B L I O G R A F I A	81

INTRODUCCION

A pesar de su bajo valor nutritivo y precio elevado, el consumo que la población hace de bebidas refrescantes comerciales es muy alto.

Actualmente existe una tendencia a envásarlos en recipientes metálicos por ser éstos desechables y de fácil manejo a pesar de tener un costo mayor.

El plomo es un elemento dúctil, resistente a la corrosión, accesible y barato, características que propician su uso en la fabricación de dichos envases en los que se encuentra como -- constituyente de la aleación o de la soldadura. Sin embargo a pesar de las múltiples ventajas que presenta el plomo, es un elemento de toxicidad comprobada por lo que debería limitarse su uso en la fabricación de recipientes para productos alimenticios.

La finalidad del presente trabajo es contribuir a la determinación de una de las posibles fuentes a través de las -- cuales el hombre ingiere un elemento tóxico, para lo cual se realizó una investigación de los métodos de análisis de trazas de plomo eligiéndose aquel que por su disponibilidad y costo podía ponerse en práctica y sobre el cual se realizó un estudio mas minucioso con el objeto de obtener mejores resultados.

Así mismo se complementó la investigación con la búsqueda de las regulaciones existentes sobre la cantidad máxima tolerable de plomo en productos alimenticios procesados, que sólo es una de las múltiples formas a través de las cuales el ser humano absorbe plomo.

I

GENERALIDADES

II.1 CARACTERISTICAS GENERALES

El plomo se ha explotado y utilizado desde hace miles -- de años; es dúctil y presenta una gran resistencia a la co--- rrosión además de otras muchas propiedades que lo hacen un -- elemento sumamente útil. Sin embargo el uso inapropiado y - desmedido del plomo ha traído como resultado el que actualmen- te constituya un contaminante muy importante debido a su toxi- cidad. Por ello surge la necesidad urgente de establecer -- cuales son los riesgos que corre el ser humano al vivir en -- zonas de gran contaminación y que medidas es necesario tomar para evitar que el problema continúe.

El plomo se encuentra en forma natural en el medio am--- biente; en la corteza terrestre (rocas) está presente en una concentración de 13 mg/Kg sin considerar aquellas zonas donde es el constituyente principal, es decir, en sus depósitos o - menas; en el suelo su concentración es muy variable pues de-- pende de muchas características como pH, tipo y cantidad de - material orgánico presente (substancias quelatantes), pero en términos generales se puede decir que la concentración encon- trada en áreas lejanas a la actividad humana es similar a la de las rocas (5 - 25 mg/Kg); en aguas subterráneas lo encon-- tramos en una concentración de 1 - 60, en agua de lagos y ríos 1 - 10, mientras que en agua de mar 0.08 - 0.4 $\mu\text{g}/\text{l}$. La con- centración en la atmósfera en puntos remotos de la civilización se halla en un orden de 0.0001 - 0.001 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, lo que coincide

con la estimación geoquímica de la concentración de plomo en el aire en sus orígenes ($0.0006 \mu\text{g}/\text{m}^3$); el plomo también se encuentra en forma natural en las plantas y se han informado los siguientes datos: hojas y tallos 2.5, vegetales y cereales 0.1 - 1.0 y pastos 1.0 mg/Kg (base peso seco).

Si comparamos estos datos con aquellos tomados en zonas cercanas a la actividad humana podemos dar una idea del grave problema que significa el plomo como contaminante.

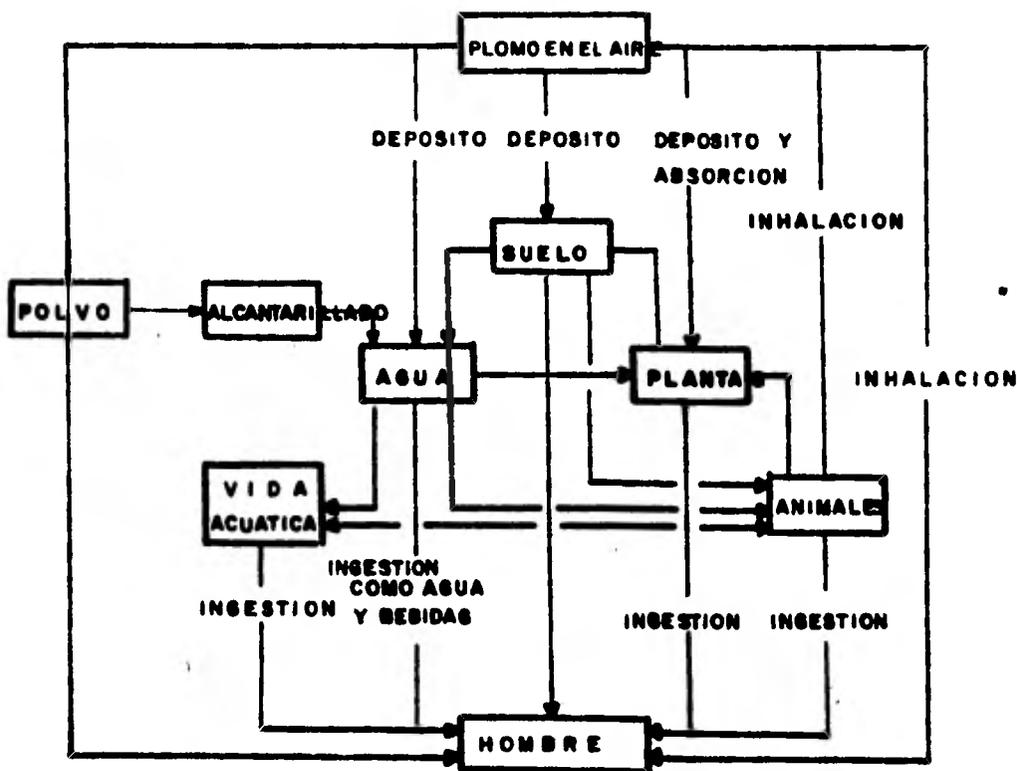
La mayor parte del plomo que se encuentra en el medio ambiente proviene de los usos industriales y tecnológicos del mismo, siendo el mayor de ellos la manufactura y aplicación de sus derivados alquilados en aditivos y combustibles.

Desde el punto de vista de transporte y distribución del plomo entre sus fuentes estacionarias y móviles podemos decir que se realiza por medio de la atmósfera (aire).

La cantidad de plomo que el hombre ingiere vía agua es mínima comparada con la existente en el aire (pequeñas ciudades $0.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ mientras que en las grandes ciudades llega a ser $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$) y en los alimentos.

La contribución que tienen los alimentos a la cantidad de plomo ingerida por los seres humanos es considerable y ha sido objeto de numerosos estudios que principiaron en 1933 con los realizados por Kenhoe quien encontró plomo tanto en alimentos de sociedades industrializadas como en los de sociedades primitivas.

Debido a la importancia que implica este problema surgió la idea de llevar a cabo la determinación de plomo en un producto de consumo común, considerando los posibles efectos toxicológicos.



CONTRIBUCION DEL PLOMO EN EL AIRE A LA INGESTION DE PLOMO TOTAL¹⁹

Las posibles fuentes de contaminación de las bebidas refrescantes con dicho metal pueden ser muy variadas, siendo -- algunas de las mas importantes: aquellas que se refieren a -- las materias primas empleadas en la elaboración del producto, a los procesos y utensilios utilizados en su manufactura y por último los que se relacionan con el almacenamiento y transporte del mismo.

- Materias primas: el agua empleada en la preparación de los refrescos puede encontrarse contaminada; existen estrictas especificaciones respecto a el agua que se emplea en la elaboración de productos alimenticios, sin embargo si no se trabaja dentro de dichos límites se puede producir contaminación.

Las frutas crudas pueden contener plomo si fueron cultivadas en suelos plumbíferos, si durante su cultivo se rociaron con plaguicidas que lo contenían, o crecieron cerca de zonas industriales o grandes ciudades y se contaminaron con polvo proveniente de dichas zonas.

Algunos otros ingredientes utilizados en la preparación como colorantes sintéticos, ácidos tartárico o cítrico es muy probable que contengan plomo derivado de sus procesos de elaboración.

- Procesos y utensilios: los alimentos en el curso de su manufactura se preparan o cocinan en plantas construidas con aleaciones metálicas en las que se puede encontrar presente el plomo, ya sea en la aleación misma o en las soldaduras utilizadas en las uniones, por otra parte, las tuberías transportadoras pueden estar recubiertas con esmaltes que lo contienen, por lo que las fuentes de contaminación son múltiples en la cadena de preparación y operaciones de procesamiento.

- Almacenamiento y transporte: los alimentos o bebidas son almacenados en vasijas o pipas antes de ser envasados y pueden contaminarse en dichos recipientes. Si además para el empaque se emplean latas que están armadas con soldadura de plomo la contaminación es mayor aun. Si bien es cierto que las latas están provistas de un recubrimiento que impide que el producto quede en contacto con el metal, puede suceder que

la substancia empleada no sea de buena calidad o se fracture cuando las latas se golpean quedando el producto expuesto a los metales que constituyen la aleación y soldadura.

Por último se ha llegado a considerar como una fuente de importancia, la contaminación ambiental que va a influir durante la elaboración de los productos.

Es claro entonces que los factores que influyen para que un producto se contamine son muchos y muy variados por lo que la resolución del problema involucra muchos estudios, largo tiempo y un gran esfuerzo económico, sin embargo todo ello es poco comparando los beneficios que se lograrían resolviéndolo y así elevar el nivel de vida de la población.

II.2 METODOS ANALITICOS PARA LA DETERMINACION DE TRAZAS DE PLOMO

Los métodos para la determinación de trazas de plomo en materiales biológicos y productos alimenticios son muy variados. Los principios en que se fundamentan, sus ventajas y - desventajas así como su sensibilidad y precisión son diversas y dependen de muchos factores como tipo y número de muestras por analizar, recursos con que se cuenta, etc.

Algunas de estas técnicas se han ido perfeccionando no - solo en la sofisticación del aparato utilizado sino también en la posibilidad de combinación con otros métodos (extracción, intercambio iónico, etc.) lo que permite obtener mejores resultados.

A continuación se mencionan comparativamente algunos de estos métodos indicando en forma resumida el principio en que se fundamentan.

- Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS):

Una solución que contiene iones metálicos se aspira dentro de una flama que los atomiza, los átomos en su estado basal son capaces de absorber energía radiante de una longitud de onda específica que por lo general es la radiación que los átomos emitirían al pasar de su estado excitado al estado basal. Al hacer incidir dicha radiación en la flama parte de la luz es absorbida y la absorción es proporcional al número de átomos en estado basal presentes en ella.

La sensibilidad (ppm) y la precisión ($\pm 5\%$) del método - son muy buenas; las determinaciones son sumamente rápidas lo que es de gran utilidad cuando se tienen que analizar un gran

número de muestras; además de que se pueden determinar varios metales en la misma porción de muestra. Las posibles desventajas del método serían que se requiere una instalación para el aparato, la cantidad de muestra utilizada es grande, la presencia de materia orgánica puede causar errores (es necesario realizar una extracción previa) y es un método destructivo.

- Voltametría de desnudado anódico (ASV) :

La voltametría se refiere al estudio de las relaciones existentes entre el voltaje, el tiempo y la corriente, durante la electrólisis realizada en una celda que consta de dos electrodos, uno de los cuales está construido de un material inerte o puede ser un electrodo de gota de mercurio (polarografía). Durante la electrólisis los iones reducibles se depositan en el electrodo de mercurio (cátodo) formando una amalgama, posteriormente se incrementa el potencial positivo en el electrodo de mercurio que se transforma entonces en ánodo; cuando el potencial se aproxima al potencial de oxidación de alguno de los metales, este metal se disuelve y la corriente aumenta rápidamente hasta un valor máximo (potencial anódico es igual a potencial de oxidación) se dice entonces que el metal fue desnudado (stripped). El potencial no se mantiene estacionario y la corriente decae hasta que se llega al potencial de oxidación de otro metal, por lo que se obtiene un voltagrama con una serie de picos que se caracterizan por el potencial y la corriente. La magnitud de estos picos es proporcional a la concentración del metal despojado de la amalgama.

Es un método sumamente sensible (ppb) y de gran preci---

sión ($\pm 2\%$), utiliza cantidades de muestra muy pequeñas, se pueden determinar varios elementos simultáneamente, es un método no destructivo y el aparato no requiere de ninguna instalación especial. Sin embargo no es una técnica barata ni de fácil acceso, además de que requiere experiencia en la operación del equipo e interpretación de los resultados.

- Espectrometría de emisión:

Cuando ciertos metales son introducidos como sales en una flama producen una luz característica que al pasarla a través de un espectroscopio se observa una serie de líneas de colores característicos; las líneas del espectro de un elemento siempre están presentes en la misma posición relativa unas de otras por lo que nos sirven para identificarlo (para análisis cuantitativo es necesario comparar con espectros de la sustancia en una concentración conocida).

La sensibilidad del método va del orden de ppm a ppb con una precisión de $\pm 10\%$. Se pueden determinar varios elementos simultáneamente y en forma rápida, y no se necesita un tratamiento previo de la muestra; pero esta técnica se utiliza principalmente para análisis cualitativo y se requiere experiencia tanto para el manejo del aparato como para la interpretación de los espectros.

- Colorimetría:

La variación del color de un sistema debida al cambio de concentración de alguno de los componentes constituye la base del análisis colorimétrico que consiste en la determinación de la concentración de una sustancia por la medida de la absorción de la luz con respecto a una sustancia de concentración conocida.

La ecuación fundamental en espectrometría es aquella que relaciona la cantidad de luz incidente con la transmitida y con el espesor y concentración del medio a través del cual -- pasa:

$$\log \frac{I_0}{I_t} = a c l = A = - \log T$$

que es la expresión de la ley de Lambert - Beer, donde a es una constante cuyo valor depende de las unidades en que estén expresadas las otras variables, si c (concentración) se expresa en moles/l y l (espesor del medio) en centímetros a se representa como ϵ y recibe el nombre de coeficiente de extinción molar ($A =$ absorbancia y $T =$ transmitancia).

Con aquellas substancias que cumplen la ley de Lambert - Beer se puede construir una gráfica de absorbancia vs. concentración que sirve como curva de calibración para conocer la concentración de una substancia mediante la medición de su -- absorbancia.

El color de la substancia analizada se debe a la formación de un compuesto colorido de la substancia a determinar con un reactivo apropiado o es inherente al constituyente. Cuando el color se debe a la formación de un complejo muchas veces es necesario extraer dicho compuesto para poder reali--zar la determinación.

La sensibilidad de las técnicas colorimétricas se encuentra en el intervalo de ppm, su precisión varía dependiendo del material y tipo de interferencias presentes y puede ser tan -- bueno como $\pm 3 \%$ o tan malo como $\pm 30 \%$.

Los análisis colorimétricos por lo general son lentos, - pues solo se puede analizar un elemento y una muestra a la vez y se puede requerir cierta habilidad en las manipulaciones de laboratorio, sin embargo es una de las técnicas mas baratas y mas accesibles razones por las que se eligió para realizar el presente estudio, además de que el caso específico de la determinación fotométrica de plomo en forma de ditizonato ha sido - muy estudiada lo que ha permitido obtener cada vez mejores resultados.

II.3 DITIZONA

II.3.1 ASPECTOS GENERALES

La gran mayoría de los reactivos orgánicos utilizados para la determinación de metales son del tipo R - H en el cual el hidrógeno puede ser reemplazado por uno o mas equivalentes del metal formando especies cargadas o neutras. El compuesto resultante es un quelato en el que el metal se encuentra unido por valencias principales y auxiliares en una estructura anular que muestra fuerte absorción en el espectro visible o en el ultravioleta.

La formación del complejo es posible gracias a la presencia de un grupo funcional de carácter básico como $-NH_2$, $=N-$, $=O$, en el reactivo, de tal manera que se forma un anillo de 5 ó 6 miembros estable en coordinación con el metal. Un ejem-

pló típico de este tipo de reactivo es la difeniltiocarbazona.

DIFENILTIOCARBAZONA: 3-mercapto-1,5-difenil-formazan, es un polvo negro-violáceo de peso molecular 256.3 conocido comúnmente como ditizona. Es muy utilizado para la determinación de trazas de metales pesados con los que reacciona dando productos de colores brillantes. Es usual que se le identifique como el reactivo utilizado para la separación y determinación fotométrica de plomo.

La gran sensibilidad de las reacciones de la ditizona se debe a la absorptividad tan alta que presentan las soluciones de la mayoría de los ditizonatos en la región de 500 - 550 nm donde el reactivo no absorbe en forma considerable. La $\lambda_{\text{máx}}$ de los ditizonatos por lo general es mayor que la $\lambda_{\text{máx}}$ de la ditizona lo que es comprensible ya que la relación ditizona/metal es mayor a uno en la mayoría de los ditizonatos.

Es un reactivo sumamente versátil, de gran aplicación y es posible usarlo obteniendo resultados satisfactorios para lo cual es necesario un correcto conocimiento de sus propiedades y comportamiento en circunstancias diversas.

II.3.2 SOLUBILIDAD

La ditizona en su forma molecular se puede considerar -- que es insoluble en agua (2×10^{-7} M), pero es soluble en soluciones acuosas alcalinas debido a su carácter ácido, ya que se forma el ión ditizonato (HDz^-) de color amarillo --- ($\epsilon_{475} = 2.25 \times 10^4$)

Es soluble en solventes orgánicos:

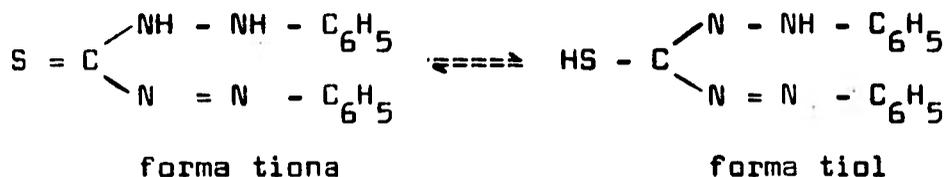
Tetracloruro de carbono	2.1×10^{-3} M	(20°C)	0.05 g/100 ml
Cloroformo	9.2×10^{-2} M	(20°C)	2 g/100 ml

Aunque también es soluble en algunos otros solventes (hidrocarburos) se mencionan estos dos por ser los que mas comunmente se emplean en las determinaciones con ditizona para propósitos analíticos.

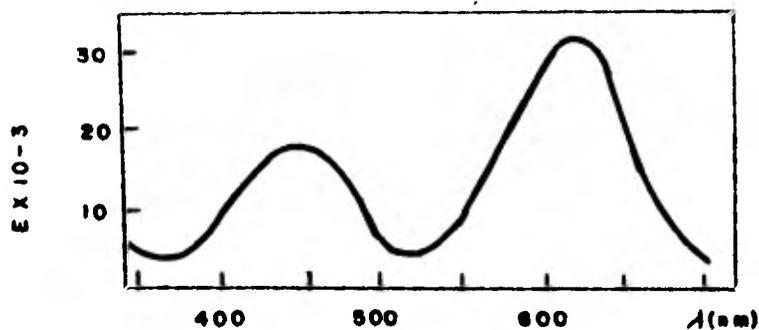
Las soluciones en solventes orgánicos son de color verde que varía en mayor o menor proporción dependiendo del solvente, por ejemplo en tetracloruro de carbono es verde pasto -- mientras que la solución en cloroformo es verde azulado.

II.3.3 PROPIEDADES ESPECTRALES

La curva de absorbancia de la ditizona en solventes orgánicos presenta dos máximos cuyas alturas relativas varían de un solvente a otro. La existencia de los dos picos corresponde a las dos formas tautoméricas de la ditizona.



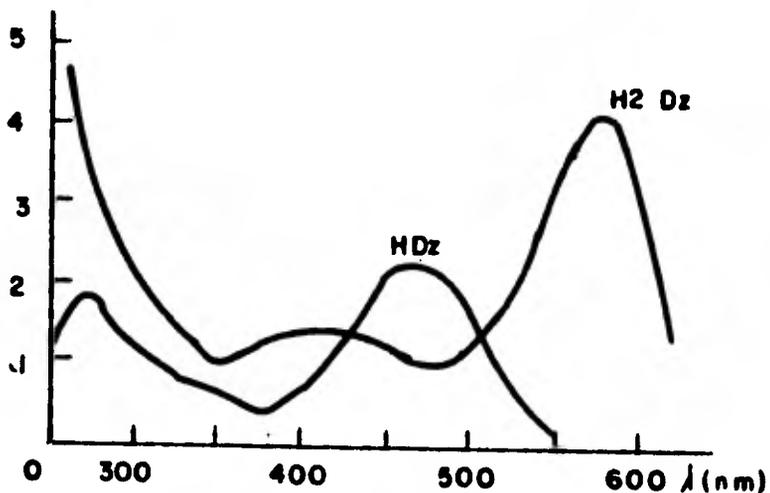
Al determinar las curvas de absorptividad en los distintos solventes es posible encontrar a que longitud de onda se encuentran cada uno de los máximos.



CURVA DE ABSORPTIVIDAD MOLAR DE LA DITIZONA
EN TETRACLORURO DE CARBONO²⁴

SIENDO LOS VALORES A LOS CUALES SE ENCUENTRAN LOS MAXIMOS Y
MINIMOS:

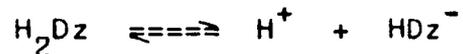
	$\lambda_{\text{máx}_1}$	$\lambda_{\text{máx}_2}$	$\lambda_{\text{mín}}$
CHCl_3	442	605	504
CCl_4	450	620	515



CURVAS DE ABSORPTIVIDAD MOLAR DE $\text{H}_2 \text{Dz}$ y HDz^-
EN AGUA²⁴

II.3.4 EQUILIBRIOS DE LA DITIZONA

La ditizona es un ácido dibásico:



Siendo la primera constante de ionización (a una fuerza iónica dada):

$$K_{pd} = \frac{(\text{aH}^+) [\text{HDz}^-]}{[\text{H}_2\text{Dz}]} = 2 \times 10^{-5} \quad \mu = 0.1 \quad (20^\circ\text{C})$$

La segunda constante de ionización queda expresada como:

$$K_{sd} = \frac{[\text{H}^+] [\text{Dz}^{=}]}{[\text{HDz}^-]}$$

su valor es tan pequeño que no se ha determinado en forma exacta, sin embargo ciertos estudios permiten afirmar que no es mayor a 10^{-15} .

Al ser la ditizona un ácido débil es claro notar que el pH es una variable importante durante las reacciones en las que interviene.

La distribución de la ditizona entre un solvente orgánico y la solución acuosa está dada por el coeficiente de extracción cuya expresión es:

$$E_d = \frac{[H_2Dz^-]_{org}}{[H_2Dz^-]}$$

siendo H_2Dz^- y HDz^- las especies existentes en la fase acuosa.

Si designamos como P_d la constante de partición de la ditizona molecular tenemos:

$$P_d = \frac{[H_2Dz^-]_{org}}{[H_2Dz^-]} = 1.1 \times 10^4 \quad \mu = 0.1 \text{ M } 25^\circ\text{C}$$

El producto de solubilidad de la ditizona es:

$$(aH^+) [HDz^-] = K_{sp} = 4 \times 10^{-12}$$

a 25°C en agua saturada con CCl_4 , $\mu = 0$

II.3.5 OXIDACION

II.3.5.1 Productos de Oxidación

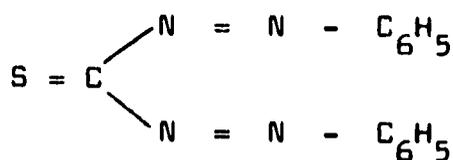
La ditizona puede ser oxidada por el aire, por productos de fotodescomposición de los solventes orgánicos y por oxidantes existentes en la solución de la muestra. Varios de los productos de oxidación de la ditizona son de color amarillo en soluciones diluidas.

En condiciones prácticas el mayor problema lo representan los oxidantes presentes en la muestra (Ej. Fe (III) que en solución alcalina en presencia de cianuro da ferricianuro) y aquellos derivados de los productos de descomposición de -

los solventes, así como bajas concentraciones de halógenos, ácido nitroso o permanganato, por lo que es usual emplear agentes reductores durante el análisis.

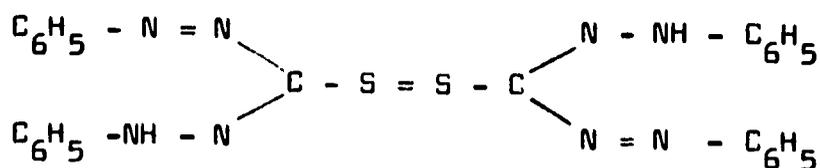
Entre los productos de oxidación mas importantes tenemos:²⁴

Difeniltiocarbadiazona

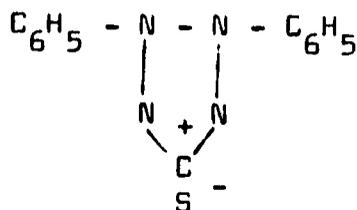


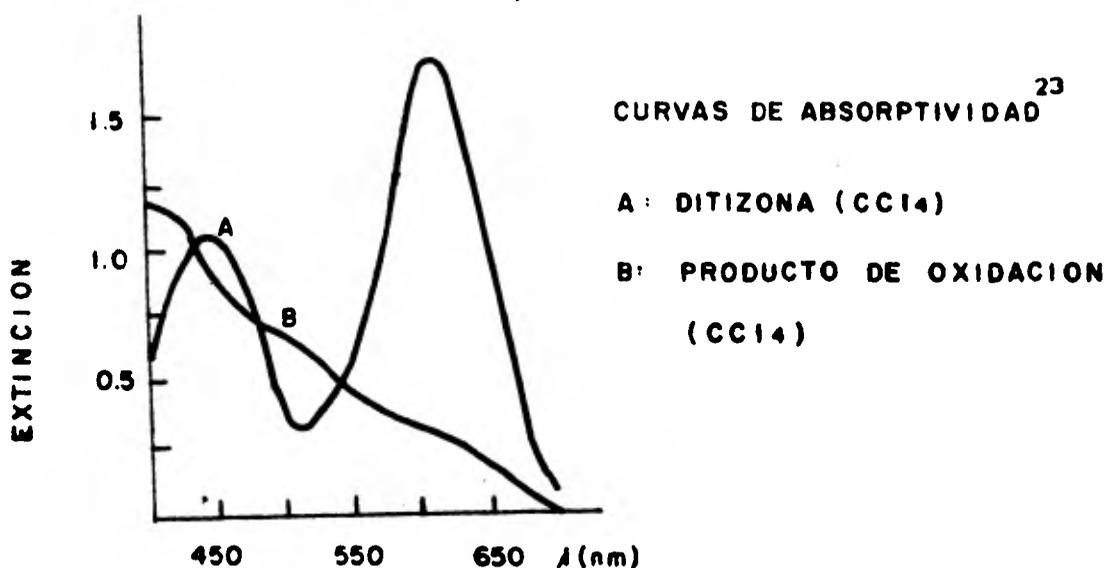
que se produce en condiciones leves de oxidación, es insoluble en soluciones básicas y ácidas, pero soluble en cloroformo y tetracloruro de carbono dando una solución amarilla o café. No reacciona con los metales.

Otros productos de oxidación son Bis-1,5-difenilformazan-3-yl-disulfuro



y un compuesto mesoiónico, 2,3 difenil-2,3-dihidrotetrazolium-5-tiolato





II.3.5.3 Estabilidad de las soluciones de ditiyona

Tanto las soluciones en tetracloruro de carbono como en cloroformo se descomponen facilmente formándose carbadiyona si se exponen a luz intensa o a altas temperaturas (incluso la temperatura del laboratorio en época de verano).

Además de la oxidación de la ditiyona algunos autores afirman que la luz actúa sobre el disolvente (cloroformo) - dando productos de descomposición como fósgeno (COCl₂) el -- cual también produce la descomposición del reactivo.

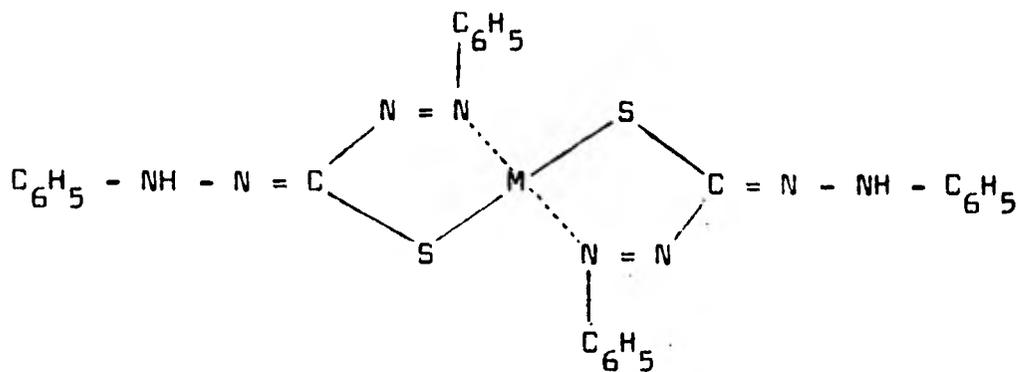
Se puede lograr la estabilidad de las soluciones guar-- dándolas en la obscuridad a 4°C.

II.4 DITIZONATOS METALICOS

II.4.1 ESTRUCTURA

La ditizona contiene dos átomos de hidrógeno activos cada uno de los cuales puede ser reemplazado por un equivalente del metal. El hidrógeno del grupo imido es reemplazado por el catión para dar un ditizonato primario y si el que se substituye es el hidrógeno del grupo sulfhidrilo (en la forma - tiol) se obtiene entonces un ditizonato secundario; todos los metales que reaccionan con la ditizona forman ditizonatos primarios y solo algunos los secundarios.

La estructura del ditizonato primario de un metal del tipo M (II) se representa de la siguiente manera:²⁴



Solubilidades del ditizonato de plomo *

Pb (HDz) ₂	CHCl ₃	4.3 x 10 ⁻⁴	25°C
	CCl ₄	5.7 x 10 ⁻⁶	25°C
	H ₂ O	3.0 x 10 ⁻⁹	

al igual que la ditizona los ditizonatos son insolubles en solución acuosa ácida o neutra (algunos ditizonatos se disocian en CCl₄ o CHCl₃ si se tratan con soluciones ácidas -- diluidas).

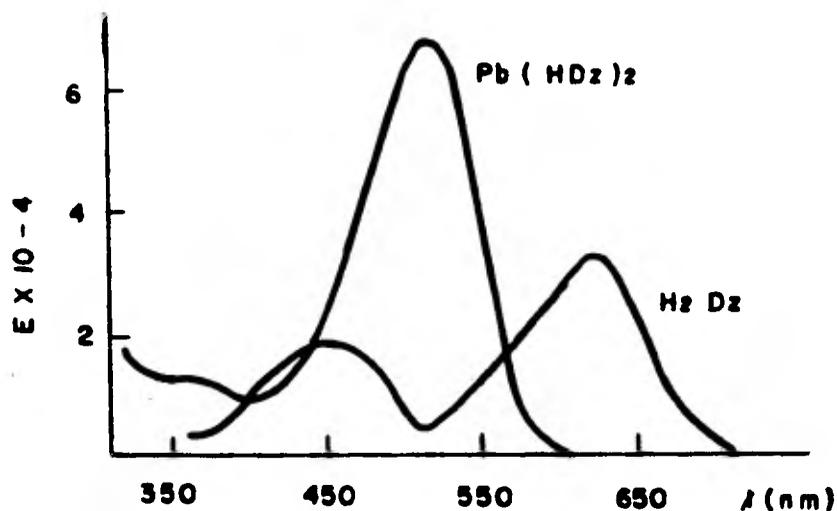
* se mencionan los valores del ditizonato de plomo como ejemplo por ser el metal que se determinó en este caso específico.

II.4.4 PROPIEDADES ESPECTRALES

Cuando una solución de ditizona en un solvente orgánico se agita con una solución acuosa de un metal se forma el ditizonato correspondiente soluble en el solvente orgánico al que imparte el color violeta, rojo, naranja o amarillo de -- dependiendo del metal involucrado.

La absorptividad molar de los ditizonatos en tetraclo-- ruro de carbono y cloroformo a la longitud de onda de su --- máxima absorción se han determinado, siendo los valores para el plomo los siguientes:

	λ máx (nm)		ε máx (l/mol cm x 10 ⁻⁴)	
	CCl ₄	CHCl ₃	CCl ₄	CHCl ₃
Pb (HDz) ₂	520	510	6.6-7.2	6.36



CURVAS DE ABSORPTIVIDAD MOLAR DE LA DITIZONA Y DITIZONATO DE PLOMO EN TETRACLORURO DE CARBONO¹⁷

II.4.5 EXTRACTIBILIDAD Y VELOCIDAD DE EXTRACCION

El orden de extractibilidad de los ditizonatos sigue el orden de insolubilidad de los sulfuros. Para un metal dado la constante de extracción es mayor en tetracloruro de carbono que en cloroformo:

$$K_{Pb} (CCl_4) = 5.4 \times 10^{-5}$$

$$K_{Pb} (CHCl_3) = 7 \times 10^{-6}$$

(medio citrato, $pH' = 6 - 8$), sin embargo la ditizona es 50 veces mas soluble en cloroformo.

La velocidad con que se alcanza el equilibrio es casi - tan importante como la magnitud de la extracción. En térmi-

nos generales se pueden hacer las siguientes observaciones:

- en soluciones básicas la mayoría de los metales se extraen rápidamente
- en soluciones ácidas se requiere un largo período de agitación para alcanzar el equilibrio
- en condiciones similares de extracción, ésta es más rápida en tetracloruro de carbono que en cloroformo (esta diferencia es mas evidente en medio ácido).
- generalmente el volúmen del solvente orgánico es menor que el volúmen de agua y al agitar vigorosamente se provoca la formación de gotas de solvente orgánico en la fase acuosa. Si se incrementa la fuerza de agitación disminuye el tamaño de las partículas y la superficie de contacto es mayor alcanzándose el equilibrio rápidamente.

II.4.6 SELECTIVIDAD

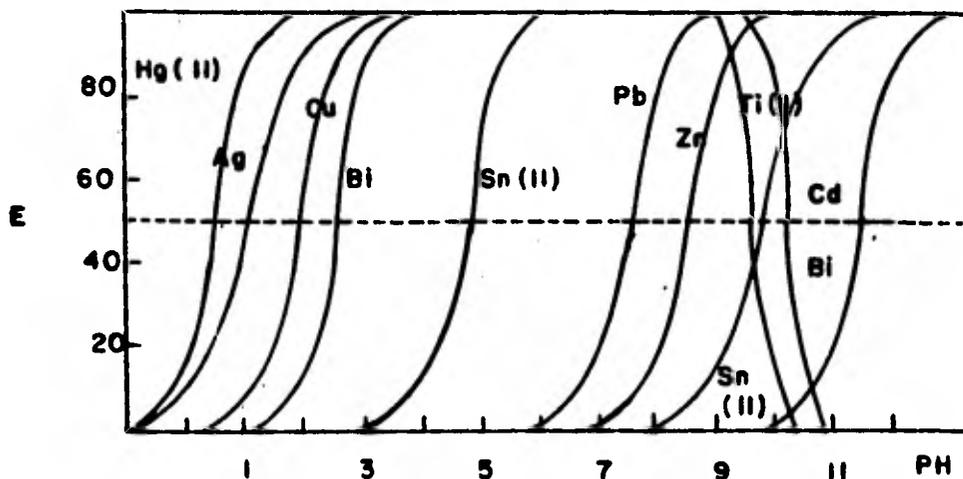
La mayoría de los reactivos orgánicos con un grupo funcional dado forman complejos con un gran número de elementos, particularmente con aquellos de propiedades químicas similares.

Aunque la ditizona reacciona con una gran cantidad de metales se puede lograr una gran selectividad en las determinaciones para lo cual es necesario:

- Ajustar el pH de la solución a ser extraída:

Cuando una solución de ditizona en tetracloruro de carbono (verde) o algún otro solvente inmiscible se agita con una solución acuosa del metal a un pH apropiado se forma el ditizonato correspondiente que se disuelve en la fase orgánica.

nica a la que imparte un color rojo, violeta o naranja. Si la reacción se realiza en medio ácido, la ditizona en exceso permanece en la fase orgánica por lo que se obtiene un color mezclado, en cambio si la solución es suficientemente alcalina la ditizona se distribuye a la fase acuosa y el color de la fase orgánica se debe exclusivamente al ditizonato. El pH utilizado para realizar la reacción dependerá de los metales o el metal que se deseen extraer pues la variación del pH nos permite extraer unos metales con preferencia a otros.



CURVAS DE EXTRACCION DE DITIZONATOS METALICOS EN FUNCION DEL pH ²⁵

Por otro lado, es posible la separación de metales (que se extraen al mismo valor de pH) realizando ajustes de pH; esto solo se realiza con éxito en aquellos casos en que las constantes de extracción difieran en un factor de 1000 como mínimo. Un ejemplo de este caso es el de Pb/Bi. que se ex-

traen simultaneamente a pH 8 - 9 y el bismuto se elimina posteriormente del extracto orgánico a pH = 3.

- Alterar el estado de oxidación de los metales interferentes:

Se ha establecido que el Fe (III), Sn (IV) y Pt (IV) no forman complejos con la ditizona por lo que si estos metales se encuentran en pequeñas proporciones en un estado mas reducido su interferencia se elimina variando el estado de oxidación.

- Adicionar agentes acomplejantes que enmascaren ciertos metales:

Cuando la extracción se realiza en medio básico generalmente se requiere la presencia de reactivos acomplejantes de metales como citrato y tartrato para prevenir la precipitación de los hidróxidos; además se pueden utilizar agentes acomplejantes que actúen como enmascarantes aumentando así la selectividad de la reacción, entre estos reactivos enmascarantes los mas comunmente usados son: cianuro, tiocianato, bromuro, tiosulfato, yoduro, EDTA, etc.

II.4.7 FUENTES DE ERROR EN LAS DETERMINACIONES CON DITIZONA

Debido a la gran cantidad de metales que reaccionan con la ditizona es claro notar que son éstos los que en un momento dado pueden impedir o interferir en la extracción del metal deseado. Para eliminar estos errores es necesario tener un buen conocimiento de la química de la ditizona así --

como una idea aproximada de la composición de la muestra.

Entre los errores mas comunes podemos mencionar:

- Interferencia de otros metales:

Como ya se indicó esta interferencia se previene por un ajuste correcto de pH y por el empleo de agentes enmascarantes.

- Extracción incompleta del ditizonato:

Puede eliminarse empleando un pH apropiado y verificando que el período de agitación sea lo suficientemente largo.

- Disociación del ditizonato:

Puede suceder que el ditizonato se disocie en el momento de lavar el extracto orgánico con una solución alcalina - para la remoción de la ditizona. Este error se evita parcialmente tratando de la misma manera los blancos, las soluciones patrón y las muestras.

- Separación del ditizonato sólido:

Es posible que el ditizonato se separe en forma sólida debido a su baja solubilidad en el solvente orgánico. La solubilidad de algunos ditizonatos en tetracloruro de carbono es muy baja y si la concentración del metal extraído es muy alta el ditizonato precipita y se aglomera en el solvente orgánico lo cual provoca pérdidas en la separación. Estos errores se evitan utilizando una porción de muestra menor o empleando como solvente cloroformo en el que los ditizonatos presentan una solubilidad mayor.

- Oxidación de la ditizona:

Esto ya se trató ampliamente y se evita añadiendo agentes reductores en el momento de realizar la extracción.

- Adsorción o coprecipitación del metal que se determina:

Puede ocurrir cuando en la solución precipitan otras -- sustancias, por ejemplo en las muestras con un alto conte-- nido de fósforo y calcio precipita fosfato de calcio al adi-- cionar amoníaco lo cual se previene por la adición de citra-- to. Si el contenido de estaño es muy alto precipita como ácido metaestánico el cual también puede englobar al metal - que está siendo determinado lo que provoca errores en los -- resultados.

El hecho de que la solución esté clara (ausencia de -- precipitado) no quiere decir necesariamente que esté libre de interferencias pues pueden existir productos de hidrólisis que interfieren en la extracción del ditizonato.

- Inestabilidad de las soluciones:

Se refiere tanto a la solución de ditizona como a la de los ditizonatos.

La estabilidad de la solución de ditizona es suficiente para poder trabajar a temperatura ambiente y sin necesidad de realizar el trabajo con extrema rapidez, siempre y cuando no exista exposición a luz intensa ni a altas temperaturas. Los errores que pudieran provenir de la descomposición de la solución de ditizona se evitan verificando regularmente la - concentración de la solución mediante la medición de la ab-- sorción, y para lograr en lo posible que no se descomponga, se guarda en la obscuridad y bajo refrigeración.

Las soluciones de los ditizonatos también son poco esta-- bles por lo que una vez realizada la extracción lo mas conve-- niente es leer la absorbancia de las muestras inmediatamente. Los ditizonatos que se extraen en un medio fuertemente básico

son por lo general mas inestables y el color cambia rapidamente..

Estabilidad del ditizonato de plomo con respecto al tiempo⁷

Tiempo (h)	Absorbancia (518 nm)						
	$\mu\text{g Pb}$	Luz			Obscuridad		
		0	2	5	0	1	3
0.0	0.032	0.201	0.512	0.034	0.103	0.315	
0.5	0.032	0.201	0.515	0.034	0.103	0.316	
2.0	0.034	0.201	0.512	0.035	0.103	0.320	
4.0	0.034	0.198	0.504	0.035	0.102	0.322	
5.0	0.033	0.193	0.500	0.040	0.096	0.322	

La tabla muestra la estabilidad del Pb (HDz)_2 (rojo) de donde se concluye que las muestras deben leerse antes de 30 minutos después de realizada la extracción.

- Metales pesados presentes en los reactivos o en el agua.

Tanto los reactivos como el agua usados en la determinación deben estar purificados en forma apropiada. El material de vidrio debe enjuagarse con ácido antes de ser usado y siempre se debe correr un testigo con los reactivos.

II.5 DETERMINACION FOTOMETRICA DE PLOMO

II.5.1 ASPECTOS GENERALES

La extracción de plomo con ditizona es un método muy importante de separación y determinación del elemento que se extrae cuantitativamente de una solución alcalina.

Plomo: El plomo tiene un número atómico 82, peso atómico - 207.19, y gravedad específica 11.34, es un metal blando de color azulado a gris plateado. Tiene un punto de fusión de 327.5°C y su punto de ebullición a presión atmosférica es -- 1740°C . Normalmente existen cuatro isótopos 208, 206, 207 y 204 (en orden de abundancia).

El plomo tiene cuatro electrones en su capa de valencia, dos de los cuales son ionizables. El estado de oxidación usual en compuestos inorgánicos es + 2 en preferencia a + 4. Las sales inorgánicas del plomo (II) como sulfuro y óxidos - son generalmente poco solubles, excepciones son el nitrato, clorato y en menor grado el cloruro. Forma sales con ácidos orgánicos como ejemplo el oxálico que son también insolubles.

Bajo condiciones apropiadas de síntesis se pueden preparar compuestos estables en que el plomo se encuentra unido - directamente a un átomo de carbono, ejemplos típicos son el tetraetilo y tetrametilo de plomo cuya importancia radica en la gran aplicación de estos compuestos en aditivos y combustibles.

II.5.2 METODOS DE DETERMINACION

II.5.2.1 Método de Monocolor

En el método del monocolor la solución acuosa (a un pH apropiado) se agita sucesivamente con porciones de solución

de ditizona (en CCl_4 o en CHCl_3) hasta que el color de la porción no se altere (verde) lo que indica que todo el metal ha sido extraído. El extracto orgánico que contiene el ditizonato y el exceso de ditizona se agita con una solución de amoníaco para remover el exceso de ditizona, y después se procede a realizar las lecturas en la longitud de onda de -- máxima absorción del ditizonato.

Este método presenta la desventaja de que al reducir la concentración de ditizona en la fase orgánica el ditizonato se disocia parcialmente y parte del metal pasa a la fase acuosa, los errores que este problema ocasiona se eliminan al -- tratar de manera similar las soluciones patrón.

La alcalinidad de la solución de lavado debe ser lo suficientemente alta para lograr que se elimine la totalidad de la ditizona (en exceso) del solvente orgánico. La ditizona es removida mas facilmente del tetracloruro de carbono que del cloroformo, es decir, a un pH dado de lavado queda menos ditizona en el primero. Se han determinado experimentalmente las relaciones usando como líquido de lavado - hidróxido de amonio 1:200.

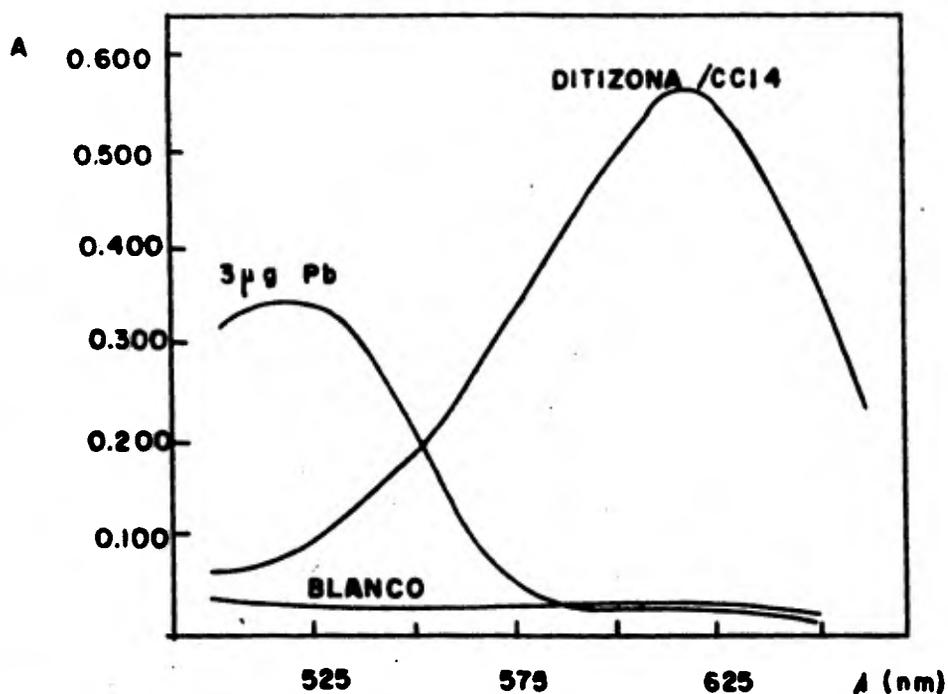
$$\frac{[\text{HDz}^-]}{[\text{H}_2\text{Dz}]}_{\text{CCl}_4} = 41 \quad (31^\circ\text{C}) \quad \frac{[\text{HDz}^-]}{[\text{H}_2\text{Dz}]}_{\text{CHCl}_3} = 1.6 \quad (30^\circ\text{C})$$

a pH = 0 los valores son 19.4 y 0.76 respectivamente.

II.5.2.2 Método de colores mezclados

El exceso de ditizona se deja permanecer con el ditizonato en la fase orgánica; la absorbancia de la solución se mide

a dos longitudes de onda, una en la cual la ditizona absorbe fuertemente y el ditizonato no y la otra a la inversa.



CURVAS DE ABSORBANCIA DE DITIZONATO DE PLOMO Y LA DITIZONA⁷

La ventaja de este método es que se pueden usar soluciones de ditizona cuya concentración no sea conocida en forma exacta. El exceso de ditizona no debe ser muy bajo para evitar la disociación del ditizonato. Ya que las absorbancias se miden a dos longitudes de onda, para realizar los cálculos es necesario conocer la absorptividad molar de la ditizona y el ditizonato. Hay que tener cuidado de evitar que se formen productos de descomposición de la ditizona lo

que alteraría los resultados.

II.5.2.3 Método de reversión

Se basa en el cambio de absorbancia de la mezcla ditizona/ditizonato producida por la adición de una sustancia capaz de formar un complejo estable con el metal y por lo tanto libera una cantidad equivalente de ditizona. Este método no presenta ninguna ventaja en especial pues al igual que en el caso anterior la absorbancia se mide a dos longitudes de onda (en el caso del plomo se emplean como reactivos de reversión ácidos minerales) .

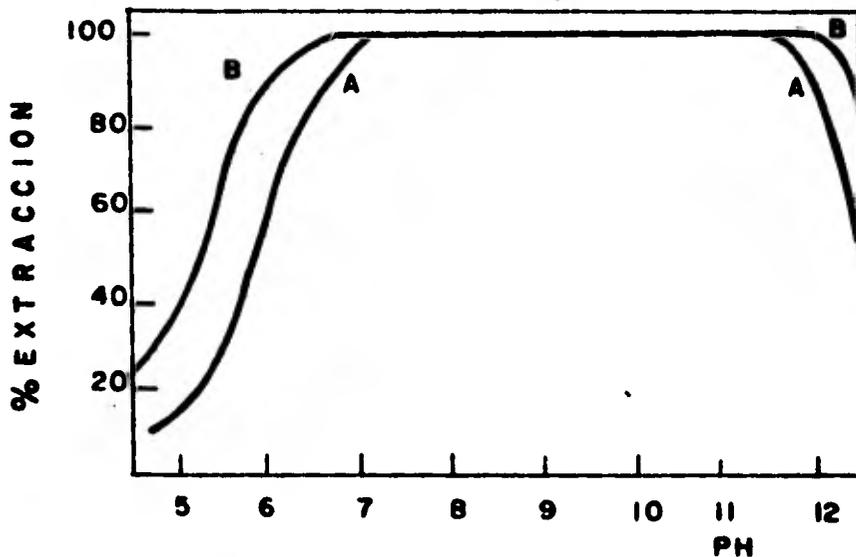
II.5.3 CONDICIONES DE EXTRACCION

II.5.3.1 Acidez

Comunmente los metales se determinan por la extracción lograda agitando la solución de la muestra con una solución de ditizona en un solvente orgánico. Si el solvente empleado es tetracloruro de carbono la mayor parte de la ditizona en exceso permanece en la fase orgánica cuando el pH es menor a 8 obteniéndose como resultado el color mezclado de la ditizona y el ditizonato. En cambio si la extracción se verifica a valores de pH básicos el exceso de ditizona se distribuye entre ambas fases. Si el pH es sumamente alto - todo el exceso de ditizona permanece en la fase acuosa (pH mayor a 11 para tetracloruro de carbono), para garantizar una distribución constante de la ditizona hay que mantener invariable el pH para lo cual se recomienda utilizar un bu--

ffer.

El intervalo de pH óptimo utilizado para la extracción cuantitativa de plomo en cloroformo en medio citrato/cianuro es 8.5 - 11, mientras que en tetracloruro de carbono en las mismas condiciones es 8 - 10.



EXTRACCION DE PLOMO (0.062 mg) DE UNA SOLUCION ACUOSA
0.01 M CITRATO Y 0.02 M CIANURO CON: A) 25 ml 0.001 % w/v
DE DITIZONA / CCl₄ Y B) 5 ml 0.002 % w/v DE DITIZONA / CCl₄²⁴

de donde podemos concluir que bajo las condiciones indicadas el pH apropiado para tener una extracción cuantitativa de plomo se encuentra entre 7.5 - 11.5 para el tetracloruro de carbono.

El mínimo pH para remover el 99% del exceso de ditizona de la fase orgánica (CCl₄) es 10.85; dicho dato se obtiene de

la relación:

$$\frac{[\text{HDz}^-] (\text{aH}^+)}{[\text{H}_2\text{Dz}]_0} = 1.4 \times 10^{-9}$$

II.4.3.1.1 Extracción de ditizonatos de medio fuertemente básico

Con una solución de ditizona en tetracloruro de carbono la relación $[\text{H}_2\text{Dz}]_0 / [\text{HDz}^-] = 0.01$ a $\text{pH} = 11$ y un aumento en la alcalinidad no muestra provocar ningún incremento significativo en la extractibilidad del metal, e incluso en ciertos casos ésta puede disminuir, lo que sucede particularmente con el plomo y el zinc.

Por cálculos aproximados se puede mostrar que el plomo no se puede extraer de una solución 1 M de hidróxido de sodio con una solución de ditizona en tetracloruro de carbono:

De los productos de solubilidad tenemos:

$$[\text{Pb}^{2+}] [\text{OH}^-]^2 = 3 \times 10^{-16}$$

$$[\text{H}^+] [\text{HPbO}_2^-] = 2 \times 10^{-16}$$

lo que nos lleva a

$$\frac{[\text{H}^+]^3 [\text{HPbO}_2^-]}{[\text{Pb}^{2+}]} = 7 \times 10^{-29}$$

de donde concluimos que la especie predominante en solución acuosa en estas condiciones es HPbO_2^- (ion biplumbito).

utilizando la expresión del coeficiente de extracción y suponiendo $[HDz^-] = 4 \times 10^{-4}$ se encuentra que

$$\frac{[Pb (HDz)_2]_{CCl_4}}{[HPbO_2^-]} = 0.0011 K$$

(esta conclusión se ha confirmado experimentalmente)

Si se realizan los mismos cálculos empleando cloroformo como disolvente la extracción de plomo es mayor debido a la mayor solubilidad del ditizonato de plomo en él

$$\frac{[Pb (HDz)_2]_{CHCl_3}}{[HPbO_2^-]} = 3 K$$

II.5.3.2 Agentes acomplejantes

II.5.3.2.1 Cianuro

Se emplea para prevenir la reacción de metales como zinc y cobre con la ditizona.

El cianuro no tiene efecto en términos generales sobre el valor de pH durante la extracción de plomo.

La concentración del ión cianuro no debe ser mayor a -- 0.1 M ya que el acomplejamiento del plomo con él se eleva en una cuarta potencia de CN^- de ahí que se eviten altas concentraciones innecesarias.



Cianuro CN^-

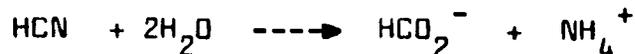
Constantes de Estabilidad de los complejos metálicos con este ión inorgánico:²²

ion	Fuerza iónica	Log	Log	Log	Log
Cu^+	0	----	24.0	28.6	30.3
Pb^{2+}	1	----	----	----	10.0
Zn^{2+}	0.1	----	----	----	16.7

El acomplejamiento del plomo con el cianuro no es de tomarse en cuenta ni en medio ácido ni básico, siempre y cuando la concentración de cianuro se mantenga en los límites establecidos.

El valor de pKa para el ácido cianhídrico (HCN) es -- aproximadamente 9.1 y por debajo de este valor de pH se desprende dicho ácido volátil y sumamente venenoso.

Los cianuros en solución acuosa se descomponen lentamente a:



esta descomposición ocurre rápidamente a temperaturas elevadas.

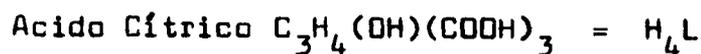
II.5.3.2.1 Citrato

Cuando la extracción con ditizona se realiza de una solución básica se requiere la presencia de un agente acomplejan-

te como citrato o tartrato para prevenir la precipitación de los hidróxidos (Fe y Al principalmente)²²

Sal	-log S	
	$\mu = 0$	$\mu = 0.1$
Al (OH) ₃	32.34	31.6
Fe (OH) ₃	38.6	37.9
Cu (OH) ₂	18.59	18.2
Pb (OH) ₂	16.09	15.7
Sn (OH) ₂	28.1	27.7
Sn (OH) ₄	56.0	
Zn (OH) ₂	15.68	15.3

Constantes de estabilidad de complejos metálicos con el ión orgánico citrato.²²



Ion	Complejos	log K _{est.}	Ion	Complejos	log K _{est.}
Al ³⁺	AlHL	7.0	Ca ²⁺	CaH ₃ L	10.9
	AlL	20.0		CaH ₂ L	8.4
	AlOHL	30.6		CaHL	3.5
Cu ²⁺	CuH ₃ L	12.0	Fe ³⁺	FeH ₂ L	12.2
	CuHL	6.1		FeHL	10.9
	CuL	18.0		FeL	25.0

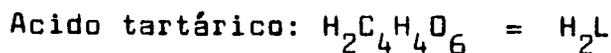
Ion	Complejos	log K _{est.}	Ion	Complejos	log K _{est.}
Mg ²⁺	MgH ₂ L	7.1	Pb ²⁺	PbH ₂ L	11.2
	MgHL	2.8		PbHL	5.2
				PbL	12.3
Zn ²⁺	ZnH ₂ L	8.7	todos estos datos a una fuerza iónica de 0.5		
	ZnHL	4.5			
	ZnL	11.4			

A un pH menor a 7.5 la formación del complejo PbCit⁻ -- impide la extracción del ditizonato de plomo. A valores de pH mayores se ha demostrado que bajo condiciones analíticas el plomo se puede extraer completamente en presencia de citrato.

II.5.3.2.3 Tartrato

Al igual que el citrato se usa para evitar la precipitación de hidróxidos metálicos, es menos efectivo que el citrato para mantener los fosfatos en solución.

Constantes de estabilidad de complejos metálicos con el ión orgánico tartrato.²²



Ion	Complejos	log K _{est.}	Ion	Complejos	log K _{est.}
Cu ²⁺	CuL	3.2	Mg ²⁺	MgHL	4.65

Ion	Complejos	log K _{est.}	Ion	Complejos	log K _{est.}
	CuL ₂	5.1		MgL	1.2
	CuL ₃	4.8			
	CuL ₄	6.5	Zn ²⁺	ZnHL	4.5
				ZnL	2.4
Pb ²⁺	PbL	3.8			

todos estos datos a una fuerza iónica igual a 0.5

Productos de solubilidad de algunos fosfatos metálicos que pueden precipitar en medio alcalino con concentraciones elevadas de iones fosfato.²²

Sal	-log S		Sal	-log S	
	μ = 0	μ = 0.1		μ = 0	μ = 0.1
AlPO ₄		18.2	Ca ₃ (PO ₄) ₂	26	23
Pb ₃ (PO ₄) ₂	43.5	40.5	Mg(NH ₄)PO ₄	12.6	
Pb(HPO ₄)	11.36	10.6	Zn ₃ (PO ₄) ₂		27.8
FePO ₄		21.9			

II.5.3.3 Agentes Reductores

El ión férrico oxida la ditizona especialmente en medio básico, esta oxidación es muy pronunciada si en el medio existe cianuro, por la formación de ferricianuro; también el cobre en las mismas condiciones produce la oxidación del reac-

tivo. Para evitar esto se emplea comunmente un agente reductor durante la extracción como clorhidrato de hidroxilamina.

Si la ditizona solo es oxidada hasta difeniltiocarbadi-
zona se puede regenerar por la acción de agentes reductores
como dióxido de azufre y sulfito de sodio además del mencio-
nado anteriormente.

II.5.3.4 Solventes

Comparación entre el cloroformo y el tetracloruro de --
carbono:²⁶

	p.eb.(°C)	p.f.(°C)	P.M.	d (20°C)	Sol H ₂ O/100g
CCl ₄	77	-23	154	1.59	0.08
CHCl ₃	61	-64	119	1.49	0.82

- el tetracloruro es menos volátil, tiene una densidad mayor y es menos soluble en agua
- el pH de extracción es mayor en cloroformo y esto hace que haya mayor posibilidad de formación de ion biplumbito
- los ditizonatos son mas solubles en cloroformo
- para un metal dado la constante de extracción es mayor en tetracloruro de carbono
- la relación de las constante de extracción del bismuto y - del plomo (K_{Bi} / K_{Pb}) es mayor en tetracloruro por lo que su separación en caso de ser necesaria sería mejor en él.

- la extracción con tetracloruro de carbono es mas rápida que con cloroformo ya que P_{H_2Dz} es menor
- la ditizona es cincuenta veces mas soluble en cloroformo
- el exceso de ditizona al lavar con amoniaco se elimina mas facilmente de el tetracloruro de carbono

II.5.3.5 Material utilizado en las extracciones

La estabilidad de las soluciones tanto de las muestras como de aquellas utilizadas como patrón depende de factores como tiempo, pH, y naturaleza del recipiente que las contiene, es importante que sean estables y que no ocurra adsorción en la superficie del recipiente.

Para evitar pérdidas por adsorción al material, el pH debe mantenerse en un valor inferior a 1.5^{12}

Conc. Inicial de Pb $\mu\text{g/ml}$	conc. $\mu\text{g/ml}$ a diferente valor de pH después de 24 horas de haberlas preparado								
	pH	1.5	3.5	5.0	6.5	8.0	9.5	11.0	12.0
10.0		10.0	5.5	0.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

(recipientes de almacenamiento: vidrio de borosilicato)

N.D. = no se detectó

Se observa en estos resultados que solo a un pH inferior a 1.5 se tiene al metal completamente en solución, y éste se pierde completamente en un intervalo de pH entre 1.5 - 3.5.

Si el período de tiempo se prolonga 4 semanas se observa que se conserva la concentración encontrada después de 24 horas.

La estabilidad de las soluciones es mayor si la concentración es menor.¹²

Conc. inicial de Pb µg/ml	conc. µg/ml a diferente valor de pH después de 24 horas de haberlas preparado								
	pH	1.5	3.5	5.0	6.5	8.0	9.5	11.0	12.0
1.0	1.0	1.0	N.D.						

N.D. = no se detectó

Al realizar trabajo de análisis es preferible utilizar material de vidrio usado, pues en el material nuevo se presenta una mayor adsorción lo que se debe a la existencia de mas sitios activos en la superficie.

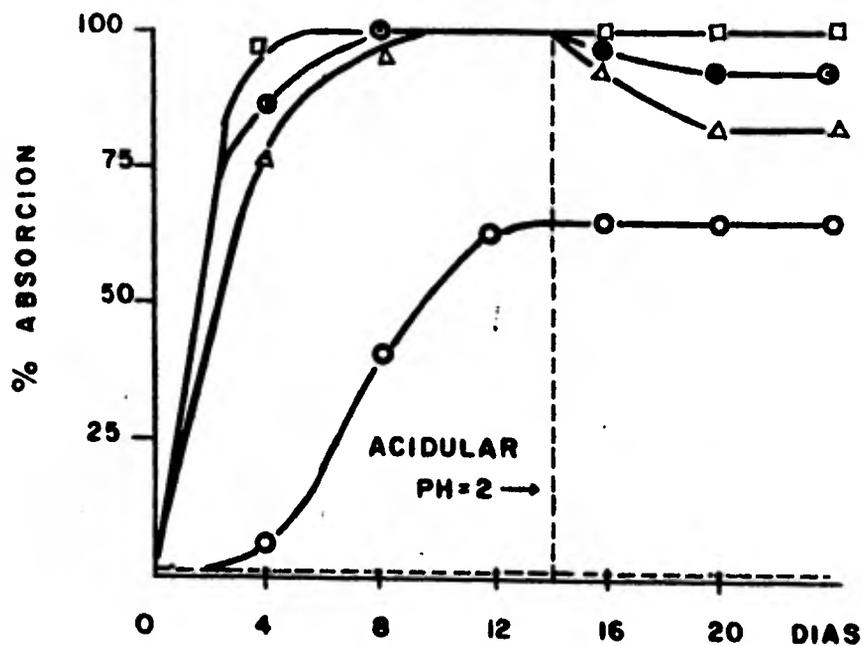
La velocidad de pérdida de los iones de la solución, no es reproducible, pero es claro notar que es sumamente rápida.

En cuanto al material que resulta mas conveniente para el almacenamiento de soluciones de iones metálicos tenemos:

Solo el vidrio de borosilicato es efectivo para lograr mantener los iones de plomo en solución después de cuatro días y esto solo es posible si el pH se mantiene por debajo de 2.

Una vez que el plomo se ha adsorbido, una posterior acidulación a pH = 2 con HNO_3 no es efectiva para desadsorber-

lo en ningún tipo de recipiente.



- VIDRIO DE BOROSILICATO PH=6
-PP PH=6
- △-△-△ PE PH=6
- PE, PP Y VIDRIO PH=4
- PE Y PP PH=2
- VIDRIO DE BOROSILICATO PH=2

ABSORCION DE 10 PPB DE PLOMO A PH 2,4 Y 6 EN VIDRIO DE BOROSILICATO, POLIETILENO (PE), Y POLIPROPILENO (PP)¹⁴

II.5.4 INTERFERENCIAS

II.5.4.1 Aniónicas

No producen interferencias hasta 1 g de Br^- , I^- , Cl^- , F^- , SO_3^- , SO_4^- , NO_3^- , citrato, tartrato, acetato y oxalato cuando después de regular el pH a 9 se añade un ligero exceso de hidróxido de amonio.

El ion PO_4^{3-} (fosfato) causa interferencia si se encuentra en cantidades considerables ya que los fosfatos de algunos metales (calcio y magnesio principalmente) son poco solubles en solución amoniaca de citrato; para eliminar esta interferencia se añade tartrato o hexametáfosfato de sodio, sin embargo si la concentración es muy elevada es necesario verificar la extracción a un pH mayor (pH = 11) pues de no realizarlo así no es posible extraer el plomo lo que se cree se debe a que el metal forma complejos estables con el ión fosfato lo que impide la formación del ditizonato (revisar la sección de resultados).

II.5.4.2 Catiónicas

Los iones Cu (II) , Ag (I) , V (V) , Cd (II) , Zn (II) , Co (II) , Ni (II) , Hg (II) quedan enmascarados con el cianuro lo que elimina su interferencia.

El cobre puede oxidar la ditizona en medio básico, parece que la tendencia oxidante depende de la relación cianuro/cobre , siendo menor cuando el exceso es pequeño.

De la misma manera el fierro férrico puede oxidar el reactivo en las condiciones de extracción sin embargo esto se

evita empleando agentes reductores como ya se indicó.

En medio citrato cianuro los únicos metales que pueden causar interferencia son el Bi, Tl, Sn (II) e In.

El estaño utilizado en la fabricación de latas contiene por arriba del 0.01 % de Bi, mientras que en las soldaduras empleadas para armarlas presentan una composición de -- 30/70 y 40/60 Sn/Pb. La disolución de grandes cantidades de estaño lleva al incremento del contenido de bismuto.

En el análisis posterior se asume que el talio e indio no se encuentran presentes.

II.5.4.2.1 Eliminación de Bismuto

Las constantes de extracción de los ditizonatos de plomo y bismuto difieren lo suficiente tanto en tetracloruro de carbono como en cloroformo lo que permite separarlos en condiciones apropiadas de acidez y concentración de ditizona.

Si consideramos la expresión de la constante de extracción:

$$\frac{[M(HDz)]_o [H^+]^n}{[M]_{H_2O} [H_2Dz]_o^n} = K_{ex}$$

los valores son los siguientes:

Pb_{CCl_4} 5.6 (en solución perclórica $\mu = 0.1$)

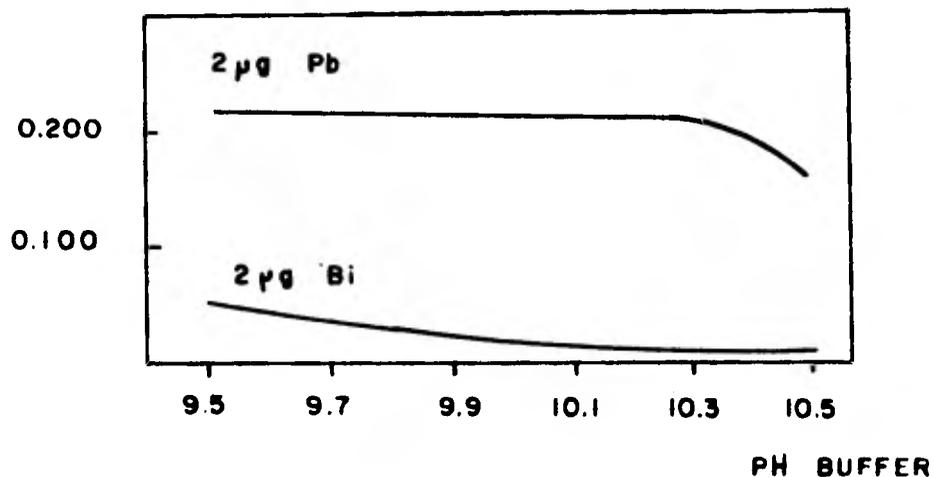
Pb_{CHCl_3} 0.15 (solución acetato)

BiCCl_4	6×10^9	(solución clorhídrica y acetato)
BiCHCl_3	2×10^5	(solución acetato)

La relación $K_{\text{Bi}} / K_{\text{Pb}}$ es mayor en tetracloruro de carbono por lo que se obtiene una separación mejor en este solvente, para lo cual se agita la fase orgánica después de realizada la extracción con una solución de ácido diluido (0.01 N de ácido sulfúrico, pH = 2.0 - 4.5).

El complejo $\text{Bi}(\text{HDz})_3$ es menos estable que el de $\text{Pb}(\text{HDz})_2$ a valores de pH elevados por lo que la interferencia de bismuto también se puede eliminar lavando el extracto orgánico que contiene ambos ditizonatos (el de Pb y Bi) con un --- buffer de pH = 10

A (518)



EFFECTO DEL PH DEL BUFFER EN LA ABSORBANCIA FINAL DE LOS COMPLEJOS $\text{Pb}(\text{HDz})_2$ Y $\text{Bi}(\text{HDz})_3$ A 518 nm EN UNA CELDA DE 1CM

En un intervalo de pH entre 9.5 y 10.2 la cantidad de plomo que se pierde es sumamente pequeña, eliminándose el 90 % del bismuto, y si se considera que el bismuto contenido en el estaño usado en la fabricación de latas es 0.01 % y que el 10 % de éste es el que se co-extrae con el plomo a pH = 10 se puede concluir que la interferencia en estas condiciones es despreciable.

Otro método para eliminar el bismuto consiste en dejarlo en la fase orgánica y el que se saca de ella es el plomo, lo que se logra usando soluciones diluidas de ácido nítrico, -- (pH = 1.5 - 2.5); KCN (1%) o buffer de ftalato (pH = 3.4).

II.5.4.2.2 Eliminación de estaño

El estaño solo causa interferencia cuando se encuentra como Sn^{2+} por lo que si durante el tratamiento de la muestra se logra cambiar su estado de oxidación a Sn^{4+} se elimina su interferencia (cosa que sucede durante la digestión de las muestras). Sin embargo la concentración en que se encuentra el estaño en los productos enlatados es muy alta por lo que era necesario verificar si en realidad la interferencia se eliminaba totalmente. Diversos autores establecen que en medio tartrato esta interferencia estaba completamente eliminada.

A muestras que contenían 5 μg de plomo se añadieron diferentes cantidades de estaño en medio tartrato y se midió la absorbancia.⁷

Sn añadido mg/Kg	A (518 nm)
-----	0.562
42	0.560
84	0.563
126	0.564
210	0.563
252	0.561

de donde se puede concluir que el estaño queda completamente enmascarado durante el proceso de extracción.

Si la concentración de estaño es muy alta, durante el tratamiento de la muestra es posible que precipite como ac. metaestánico, y ya que debe evitarse la presencia de cualquier precipitado, en estos casos es necesario remover el estaño en forma previa a realizar la extracción, lo cual se puede lograr volatilizándolo como bromuro estánico (SnBr_4) mediante el tratamiento con bromo y ácido bromhídrico. Otro método consiste en la separación del plomo como sulfuro, el precipitado se lava con solución de polisulfuro de sodio (Na_2S_x) con lo que el sulfuro de estaño se disuelve separándolo así de el de plomo que posteriormente se redisuelve por la adición de ácido nítrico.

II.5.5 EQUILIBRIOS DURANTE LA EXTRACCION

Este capítulo se ejemplifica con los equilibrios existentes en el sistema ditizona-agua-tetracloruro de carbono espe-

cialmente enfocado a la determinación de plomo pues es el sistema utilizado experimentalmente.

La reacción de extracción del ditizonato primario es:



donde o = fase orgánica = CCl_4

La constante de extracción a una fuerza iónica específica es:

$$K_{\text{ex}} = \frac{[\text{Pb}(\text{HDz})_2]_o (\text{aH}^+)}{[\text{Pb}^{2+}] [\text{H}_2\text{Dz}]_o^2} = 5.6 \quad \mu = 0.1$$

Si se considera que las únicas especies existentes en el sistema son Pb^{2+} y $\text{Pb}(\text{HDz})_2$, el coeficiente de extracción, es decir, la relación de las concentraciones de plomo en la fase orgánica y la fase acuosa queda expresada:

$$E = \frac{[\text{Pb}(\text{HDz})_2]_o}{[\text{Pb}^{2+}]} = K_{\text{ex}} \frac{[\text{H}_2\text{Dz}]_o^2}{(\text{aH}^+)}$$

sin embargo en la práctica el plomo se encuentra formando -- parte de otras especies por lo que la expresión anterior queda entonces:

$$E = \frac{[Pb(HDz)_2]_o}{\sum [Pb]}$$

las especies a considerar en la fase acuosa son:

- Especies hidroxoplomo ($PbOH^+$, $Pb(OH)_2$, etc.)

$$k_1 = \frac{[PbOH^+]}{[Pb^{2+}]} (aH^+) = 3 \times 10^{-7} \quad \mu = 0.1 \quad (25^\circ C)$$

$$k_2 = \frac{[Pb(OH)_2]}{[Pb^{2+}]} (aH^+)^2 = 3 \times 10^{-18}$$

$$k_3 = \frac{[HPbO_2^-]}{[Pb^{2+}]} (aH^+) = 7 \times 10^{-29}$$

- Especies ditizona-plomo ($PbHDz^+$, $Pb(HDz)_2$)

$$k_{d1} = \frac{[PbHDz^+]}{[Pb^{2+}][HDz^-]} = 1 \times 10^7$$

$$k_{d2} = \frac{[Pb(HDz)_2]}{[Pb^{2+}][HDz^-]^2} = 1.43 \times 10^{15}$$

- Complejos de plomo con aniones (cianuro, citrato, etc.)

$$k_{x1} = \frac{[\text{PbCit}^-]}{[\text{Pb}^{2+}][\text{Cit}^{3-}]} = 5.4 \times 10^5$$

$$k_{x2} = \frac{[\text{Pb}(\text{CN})_4^{2-}]}{[\text{Pb}^{2+}][\text{CN}^-]^4} = 2 \times 10^{10}$$

$$k_{x3} = \frac{[\text{PbNO}_3^+]}{[\text{Pb}^{2+}][\text{NO}_3^-]} = 0.11$$

La concentración de plomo en la fase acuosa está dada por:

$$\sum [\text{Pb}] = [\text{Pb}^{2+}] + [\text{PbOH}^+] + \dots + [\text{PbHDz}^+] + \dots + [\text{PbX}^+] + \dots$$

Substituyendo en el coeficiente tenemos:

$$E = \frac{K_{ex} [\text{H}_2\text{Dz}]^2}{(\text{aH}^+) \left\{ 1 + \frac{k_1}{(\text{aH}^+)} + \dots + k_{d1} [\text{HDz}^-] + \dots + k_{x1} [\text{X}^-] + \dots \right\}}$$

Si consideramos como condiciones de extracción las siguientes y sustituimos los valores correspondientes en la ecuación anterior tenemos:

Condiciones: pH = 9 en medio citrato 0.5 M, cianuro 0.2 M asumiendo una $\mu = 0.1$, la concentración de la solución de ditiona es 2×10^{-4} M y el volumen de la fase acuosa es igual

al de la fase orgánica, substituyendo obtenemos un valor de $E = 1.9 \times 10^3$. En la práctica el volúmen de tetracloruro de carbono es 1/5 o 1/10 de el de la fase acuosa por lo que la recuperación de plomo es mayor.

La expresión del coeficiente de partición es:

$$P = \frac{[\text{Pb}(\text{HDz})_2]_{\text{org}}}{[\text{Pb}(\text{HDz})_2]_{\text{acu}}} = \frac{\text{sol. en } \text{CCl}_4}{\text{sol. en } \text{H}_2\text{O}} = \frac{6 \times 10^{-6}}{3 \times 10^{-9}} = 2 \times 10^3$$

y el producto de solubilidad:

$$[\text{Pb}^{2+}] [\text{HDz}^-]^2 = 10^{-24}$$

Entre otros aniones en la solución se ha visto que el azufre (sulfuro) causa problemas, no se sabe claramente --- como sucede esto pues no se conoce bien el sistema entre --- $\text{Pb}^{2+} - \text{HS}^- - \text{S}^{=}$. Debe tenerse cuidado con este tipo de interferencia pues el azufre se encuentra comunmente como contaminante en los cianuros alcalinos.

II.6 EFECTOS TOXICOLÓGICOS DEL PLOMO Y FACTORES QUE INFLUYEN EN SU TOXICIDAD

Los metales pueden ser considerados como contaminantes si se encuentran presentes en cantidades que resulten perjudiciales para la salud.

En general se puede clasificar a los elementos en 3 grupos:

- Trazas de elementos nutritivos: son aquellos que juegan un papel importante en los procesos biológicos del hombre o de los animales por ejemplo Co, Cu, Fe, etc.

- Trazas de elementos no nutritivos pero no tóxicos: son aquellos a los que no se atribuye ninguna propiedad nutritiva pero que no se sabe que perjudiquen al hombre o a los animales siempre y cuando su concentración no sea mayor a 100 ppm por ejemplo Al, Sn, Tl, B, etc.

- Trazas de elementos no nutritivos y tóxicos: además de no tener propiedades nutricionales resultan ser tóxicos, por ejemplo Ag, As, Bi, Pb, Hg, Sb, Ba, Cd, etc.

El plomo se encuentra ampliamente distribuido como microconstituyente del reino vegetal y animal, es un elemento tóxico acumulativo, por lo que hay que tomar en consideración la absorción, transporte y biotransformaciones del plomo en las plantas y animales que forman parte directa o indirecta de la alimentación humana. Además los alimentos pueden contaminarse si crecen en suelos plumbíferos, si son rocía-

dos con plaguicidas que lo contienen (arsenito y arseniato de plomo) o crecen cerca de zonas de gran industrialización; la contaminación puede provenir también del proceso de elaboración pues el plomo puede estar presente en las aleaciones metálicas, soldaduras así como en los ingredientes utilizados en la elaboración. Por otra parte en las ciudades se utilizan aleaciones, instrumentos, aparatos eléctricos y procesos industriales de los cuales se libera hacia el aire, agua o suelo y subsecuentemente entra en nuestra cadena alimenticia.

Se sabe muy poco de las transformaciones biológicas del plomo y de la toxicidad relativa de las diferentes formas en que se encuentra; tiene una vida media biológica extremadamente larga (4 años) por lo que tiende a acumularse en el cuerpo dando origen a una enfermedad (intoxicación con plomo) conocida como plumbismo (de la palabra latina plomo) o saturnismo (palabra utilizada por los alquimistas) que fue descrita por el griego Nicander hace 2000 años.

La edad, estado fisiológico, nutricional y genético son factores que determinan la toxicidad de los metales pesados, por ej. los niños son mas susceptibles que los adultos a la toxicidad del plomo.

Como ya se dijo el plomo se encuentra en forma natural en pequeñas cantidades en la dieta; se cree que la cantidad ingerida diariamente por los adultos es de un orden de 0.3 mg de los que el 90 % pasa a través del tracto intestinal y no es absorbido, pero a esto hay que añadir la ingestión por vía respiratoria que se encuentra en un orden de 5 - 50 μ g de plomo al día. El plomo que no pasa a través del tracto in-

testinal se fija en los huesos y la concentración en ellos se incrementa con el tiempo, o bien puede pasar a los tejidos blandos en los que la concentración es estable a través del tiempo.

Cuando el envenenamiento con plomo presenta manifestaciones clínicas es por que los niveles encontrados en los tejidos son muy altos.

Entre los efectos patológicos del plomo tenemos:

- A nivel metabolismo celular, la inhibición de las enzimas dependientes de la presencia de un grupo sulfhidrilo libre. Un ejemplo de este caso son los disturbios que causa en la biosíntesis del heme que es un constituyente que contiene fierro y que al combinarse con proteínas da origen a la hemoglobina. El heme también es constituyente esencial de otros pigmentos respiratorios como los citocromos, que juegan un papel importante en el metabolismo energético. La manifestación clínica de este hecho es la anemia que puede ser reversible si se evita la exposición excesiva a plomo.

- El plomo también actúa sobre los riñones alterando su aspecto y función. Las células de riñón envenenadas con plomo consumen mas oxígeno que células normales lo que indica que su metabolismo se ve alterado. Al igual que en el caso anterior puede ser reversible.

- Produce encefalopatía que puede manifestarse en dos formas: edema o daño directo sobre las células nerviosas en su aspecto y función.

- Se ha dicho que en personas expuestas a concentracio-

nes elevadas de plomo se aumenta la susceptibilidad a las -- infecciones.

Todos estos efectos se producen por envenenamiento con plomo resultado de una acumulación en corto tiempo, pero también se presentan efectos crónicos, que son:

- Nefritis, caracterizada por la disminución del tamaño de las células renales y alteración en sus funciones.

- Afectación del nervio periperál con lo que se afectan los nervios motores de las extremidades.

- En caso de encefalopatías crónicas se puede producir retardación mental, ceguera, parálisis cerebral y otros tipos de daños neurológicos permanentes.

En el caso de plantas se puede alterar el metabolismo de los elementos indispensables y disminuir su capacidad para un desarrollo sano y normal.

Los efectos toxicológicos del plomo sobre el ser humano, los animales y las plantas son muchos y muy peligrosos y en la mayoría de los casos irreversibles de ahí la importancia de encontrar no solo los medios para combatir las intoxicaciones sino establecer las condiciones propicias para que éstas no se produzcan.

II.7 REGULACIONES EXISTENTES

Es importante tener un conocimiento claro de la contaminación con metales en los alimentos no solo por el importante

factor toxicológico, pues aun en metales no tóxicos para evitar cambios en las propiedades y apariencia de los productos pues por ejemplo hay metales que aceleran la oxidación de las grasas o alteran el color de los alimentos.

Debe tenerse control tanto sobre las materias primas utilizadas en la elaboración como sobre todo el proceso de manufactura, los empaques ya sean metálicos o no y la tinta utilizada en dichos empaques. Además es necesario establecer durante cuanto tiempo un alimento empacado se puede considerar que se encuentra en condiciones óptimas.

Al intentar establecer niveles de seguridad es importante tomar en cuenta todas las fuentes de plomo como son el aire, el agua y la dieta y deben ser considerados conjuntamente.

El concepto de " concentración toletable " debe quedar claro pues de hecho todos los elementos indispensables y no indispensables son potencialmente tóxicos dependiendo de su forma, concentración, relación con otros elementos, duración y curso de exposición. Entonces el problema es definir los límites de concentración entre los cuales la exposición a los metales pesados no produce efectos adversos.

La Joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission fue establecida para formular el Joint FAO/WHO Food Standard Programme, cuyo propósito era la elaboración de patrones internacionales enfocados a la protección de la salud del consumidor y fijar legislaciones para los alimentos en su composición, aditivos, residuos de pesticidas, y otros contaminantes así como fijar los métodos de análisis y muestreo.

Para los propósitos del Código Alimentario, " contami--

nante " es cualquier substancia que no fue añadida intencionalmente a los alimentos y está presente en los productos como resultado de la producción (incluyendo condiciones de -- cultivo, cria de animales, medicinas veterinarias etc.), -- manufactura, procesamiento, preparación, tratamiento, empa-- que, tiempo de duración del empaque, transporte o manejo de los alimentos. El término no incluye fragmentos de insectos, cabellos y otro tipo de materiales externos. Los pesticidas se consideran como contaminantes pero el Código los define en forma separada.

La evaluación toxicológica de los contaminantes se enfoca a cual es la cantidad máxima tolerable que un hombre - puede ingerir de acuerdo con un Comité Experto. Los límites se establecen empleando los siguientes términos: máxi-- mo aceptado diariamente o ingestión tolerable a la semana - (provisional).

La lista²⁰ contiene aquellos contaminantes a los cuales la Joint FAO/WHO Expert Comitee on Food Aditives evaluó --- desde el punto de vista toxicológico.

Plomo:

Ingestión semanal provisional por un hombre:

0.05 mg/kg de peso corporal

Para el análisis de jugos de frutas recomienda el método fotométrico y menciona una concentración tolerable de --- 0.3 ppm.

Arsénico:

Máxima ingestión diaria (tentativa)

0.05 mg/Kg de peso corporal

Cadmio:

Ingestión semanal provisional por un hombre:

0.0067 - 0.0083 mg/Kg de peso corporal

Cobre:

Máxima ingestión diaria (tentativa)

0.5 mg/Kg de peso corporal

Mercurio:

Ingestión máxima tolerable a la semana (provisional)

Como mercurio total 0.005 mg/Kg de peso corporal

Como metil mercurio 0.0033 mg/Kg de peso corporal

Estaño:

Aparentemente no presenta problemas de toxicología por lo que no se indica la cantidad aceptable.

Zinc

Establece lo mismo que para el estaño.

III PARTE EXPERIMENTAL

III.1 MATERIAL

El material utilizado para realizar el tratamiento y -- extracción de la muestra así como la preparación, almacena-- miento y medición de las soluciones fue de vidrio de borosi-- licato (Pyrex, Kimax o IVA). Algunas soluciones (pH al-- calino) se almacenaron en recipientes de plástico (CIPSA).

La digestión de las muestras se realizó en matraces para Quick-Fit de 50 ml provistos de un refrigerante de aire pues no se disponía de matraces Kjeldhal, y el calentamiento du-- rante dicho tratamiento se realizó con mecheros Bunsen.

Todo el material antes de ser usado se lavó con agua y jabón, después se enjuagó con una solución caliente de hi--- dróxido de sodio (NaOH) al 10 % y por último con ácido ní-- trico al 30 % caliente. Este material limpio se guardó en una solución de ácido nítrico al 10 % (m/v) y antes de u-- sarlo se enjuagó tres veces con agua destilada y 3 veces con agua deionizada.

Aparatos:

- Agitador magnético
- Placa de calentamiento
- pH metro Sargent-Welch L. S.
- Colorímetro SPECTRONIC 20 , Bausch and Lomb

III.2 REACTIVOS: PURIFICACION Y PREPARACION⁷

- AGUA DEIONIZADA: resina Sybron/Barnstead
- ACIDO SULFURICO: Merck para análisis; d = 1.84 (98%)
especificaciones: metales pesados como plomo 0.00001 %
- ACIDO NITRICO: Merck para análisis: d = 1.41 (65%)
especificaciones: metales pesados como plomo 0.000005 %
- ACIDO CLORHIDRICO: Técnica Química, S. A. Reactivo Analítico. Especificaciones: metales pesados como plomo 0.0001%
- HIDROXIDO DE AMONIO: J.T. Baker, Baker Analyzed Reactivo; especificaciones: metales pesados como plomo 0.00001 %
- PEROXIDO DE HIDROGENO 30 % : Técnica Química, S. A. Reactivo Analítica; especificaciones: metales pesados como plomo 0.0001 %
- SOLUCION DE CITRATO DE AMONIO 10 % (m/v) :
P.M. 226.19 $(\text{NH}_4)_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ Baker Analyzed Reactivo; metales pesados como plomo 0.0003 %.

Disolver 100 g de citrato de amonio en 600 ml de agua deionizada, añadir 5 ml de fenolftaleína (0.1 % m/v en etanol 90 % v/v), 7 ml de hidróxido de amonio y diluir a 1 litro con agua deionizada. Extraer con porciones de 10 ml de la solución de ditizona hasta que la solución de citrato esté libre de plomo (2 ó 3 veces). Añadir ácido clorhídrico hasta obtener un pH = 6.8 y tratar la solución de citrato con porciones de 25 ml de tetracloruro de carbono para eliminar la ditizona que se haya disuelto 4 ó 5 veces.

- SOLUCION DE CLORHIDRATO DE HIDROXILAMINA 10 % (m/v):
P.M. 69.50, $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$; Técnica Química, S. A.

Disolver 10 g de clorhidrato de hidroxilamina en agua - deionizada y diluir a 100 ml. Si es necesario el plomo se remueve con ditizona después de ajustar el pH a 9 con amoníaco.

- SOLUCION DE TARTRATO DE SODIO Y POTASIO 20% (m/v):
P.M. 282.23; Técnica Química, S. A. Reactivo Analítico, metales pesados como plomo 0.0005 % ($\text{K Na C}_4\text{H}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

Disolver 20 g de tartrato de sodio y potasio en agua -- deionizada y diluir a 100 ml.

- SOLUCION DE CIANURO DE POTASIO 20 % : P.M. 65, KCN, técnico.

Disolver 20 g de cianuro de potasio en agua deionizada y diluir a 100 ml. Se añaden 2 g de óxido de magnesio (MgO) y se hierve por 30 min. Se enfría y filtra a vacío. Diluir a 100 ml con agua deionizada. Si es necesario remover plomo se hace con ditizona en medio alcalino.

- SOLUCION DE DITIZONA:²¹

Purificación: Disolver 1 g del reactivo comercial en 50 - a 75 ml de cloroformo y filtrar. Extraer con 4 porciones de 100 ml de agua amoniacal (NH_4OH 1 + 99). Filtrar las porciones acuosas a través de un algodón insertado en el tallo del embudo de separación. Acidular con ácido clorhídrico - (1 ml al 25%) y extraer con 2 ó 3 porciones de 20 ml de -- cloroformo. Combinar los extractos en el embudo y lavar 2 ó 3 veces con agua deionizada. Colocar los extractos en un vaso de p.p. y evaporar el solvente a baño maría. Las últimas

trazas de solvente se eliminan con calentamiento durante una hora a una temperatura menor o igual a 50°C al vacío. Se obtiene el residuo seco de ditizona pura.

Solución en existencia: disolver 60 mg de Ditizona (pura) en tetracloruro de carbono y diluir a 50 ml. La concentración de la ditizona en tetracloruro se determina con facilidad espectrofotométricamente ($\epsilon = 22.2 \times 10^3$ a 620 nm, celda 1 cm) Para almacenar dicha solución debe guardarse en un frasco ámbar y añadirle 10 ml de agua bidestilada y 1 ml de ácido sulfúrico 1 N. Esta solución es estable durante meses si se almacena a 4°C.

Solución de trabajo: diluir 5 ml de la solución anterior con tetracloruro de carbono a 100 ml.

- SOLUCION BUFFER pH = 10:

Agregar 10 ml de ácido clorhídrico a 900 ml de agua deionizada y añadir hidróxido de amonio hasta obtener un pH = 10 Diluir con agua a un litro. Verificar el pH regularmente.

- ACIDO NITRICO 1 % (m/v)

- SOLUCIONES PATRON DE PLOMO:

Purificación del reactivo: Disolver 20 - 50 g de nitrato de plomo ($Pb(NO_3)_2$) en la cantidad mínima de agua caliente. Enfriar con agitación. Filtrar los cristales con succión en un buchner pequeño, redissolver y recrystalizar. Secar a 100 - 110°C a peso constante. Enfriar en un desecador y almacenar en un frasco cerrado (el producto no tiene agua de cristalización y no es higroscópico).

Solución en existencia: disolver 1.599 g de nitrato de plomo (recrystalizado) en 1 l de ácido nítrico al 1 % (m/v).

Esta solución contiene 1 g de Pb/l (pH < 2).

Solución de trabajo: de la solución anterior, tomar las alícuotas necesarias para preparar las soluciones patrón utilizando ácido nítrico 1 % como disolvente.

- TETRACLORURO DE CARBONO:²⁶

El producto comercial contiene una cantidad mayor a un 4 % de disulfuro de carbono (CS_2), para eliminarlo: tomar 1 l del disolvente y tratarlo con hidróxido de potasio (KOH) (1.5 veces la cantidad requerida para combinarse con el disulfuro de carbono) disuelto en la misma cantidad de agua y 100 ml de etanol. Agitar la mezcla vigorosamente por 30 minutos a 50 - 60°C. Después de lavar con agua se repite este proceso utilizando la mitad de hidróxido de potasio. Eliminar el etanol agitando varias veces con 500 ml de agua. Posteriormente agitar con pequeñas porciones de ácido sulfúrico concentrado hasta que la porción quede incolora. Lavarlo con agua, secarlo sobre cloruro de calcio y destilar. (p. eb. 77 °C a 760 mm Hg).

- CLOROFORMO:²⁶

El producto comercial contiene 1 % de etanol que se añade como estabilizador.

Para purificarlo el cloroformo se agita 2 ó 3 veces con un pequeño volúmen (5 %) de ácido sulfúrico concentrado, se lava con agua, se seca sobre cloruro de calcio o carbonato de potasio anhidro y se destila (p. eb. 61°C a 760 mm Hg).

III.3 METODO

III. 3 METODO

Se usó un método espectrofotométrico⁷ basado en el procedimiento de extracción con ditizona en tetracloruro de carbono. Las muestras se digieren con ácido sulfúrico y nítrico y el plomo es extraído a pH = 9.5 después de la adición de agentes enmascarantes de otros iones metálicos. El extracto orgánico se lava con un buffer de pH = 10 para remover la ditizona que quedó sin reaccionar y eliminar el bismuto en caso de estar presente.

Para trazar la curva patrón las soluciones se trataron de igual manera y con los resultados se construyeron las gráficas de absorbancia vs. concentración que se verificaron regularmente. Es necesario que las soluciones patrón utilizadas para la preparación de la curva tengan un pH ácido ($\text{pH} < 2$) para minimizar las pérdidas de iones por adsorción.

Como ya se mencionó a un intervalo de pH entre 7 - 10 la extracción es lo suficientemente cuantitativa para obtener un máximo de absorbancia.

El agente enmascarante empleado es cianuro, el valor -- del pKa del ácido cianhídrico es 9.1 de ahí que no deba tenerse valores de pH inferiores para evitar el desprendimiento de vapores venenosos.

El indicador añadido vira a rosa en el momento de adicionar el hidróxido de amonio, el pH obtenido es aproximadamente 9.6, al agregar todos los reactivos durante la extracción el pH final es aproximadamente 9.5

D i g e s t i ó n ⁷

5 ml muestra
+
5 ml sln. std. Pb
+
2 ml H₂SO₄

+
2 ml HNO₃
↓
mezcla ligera-
mente amarilla o
incolora

+
2 ml de agua deionizada
+
1 ml H₂O₂ 30 %

a g i t a r
↓
humos
Enfriar a temp.
ambiente
↓
Transferir a embudos
de separación

Los blancos se preparan de mane-
ra similar sustituyendo unicamen-
te los 5 ml de muestra por 5 ml
de agua deionizada

En caso de formación de espuma -
hay que tener una temperatura tal
que la ebullición esté bajo con-
trol

Si durante el calentamiento la -
muestra toma un color café se adi-
cionan unas gotas de HNO₃ hasta -
que desaparezca

Después de que se empiezan a des-
prender los humos blancos se con-
tinúa el calentamiento por 30 min.

Extracción⁷

Transferir a embudos
de separación

+

10 ml Citrato de amonio

+

10 ml NH_4OH

enfriar a temp. ambiente

Agitar después de cada
adición

soluciones rosas

+

2 ml $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$

+

2 ml Tartrato de Na y K

+

1 ml KCN

+

3 ml sln. Ditizona

Agitar 3 minutos

Eliminar la fase acuosa
(succión)

+

25 ml Buffer

Agitar 2 minutos

Transferir la fase orgánica
a celdas 1 cm

Leer a 518 nm antes de 30 min.

El clorhidrato de hidroxilamina se añade para evitar la oxidación de la ditizona, y el agente enmascarante adicional (tartrato) se usa para acomplejar el Sn^{4+} .

La solución buffer se emplea para eliminar el exceso de ditizona y el bismuto; un lavado es suficiente para la remoción de la ditizona en exceso, hay que evitar un lavado excesivo y tener un control estricto del pH para evitar pérdidas de plomo de la fase orgánica

Antes de realizar la lectura la fase orgánica se filtra a través de un algodón insertado en el tallo del embudo de separación. Debido a la poca estabilidad del ditizonato de plomo (rojo) a la luz es necesario leer todas las muestras antes de 30 minutos para evitar cambios en la absorbancia que se mide a 518 nm.

III.3.1 CASOS ESPECIALES EN LOS QUE FUE NECESARIO MODIFICAR EL METODO

Los iones fosfato en pequeñas cantidades no causan interferencia pues el efecto principal que ejercen sobre los iones metálicos es su precipitación en medio alcalino, sin embargo esto queda completamente eliminado por la adición de agentes acomplejantes como citrato y tartrato que ayudan a mantenerlos en solución. Sin embargo si la concentración de fosfatos es elevada no es posible realizar la extracción a un valor de pH menor a 11 por lo que en este tipo de muestra la cantidad de hidróxido de amonio adicionada fue mayor.

IV

RESULTADOS

IV.1 CURVA DE CALIBRACION

No se presentó ningún problema en especial en la elaboración de la curva de calibración. Para construirla, las soluciones patrón se trataron de igual forma que las muestras y los resultados obtenidos fueron satisfactorios.

Concentración (μg)	A	Concentración (μg)	A
1.57	0.19	3.13	0.38
2.09	0.26	4.18	0.51
2.61	0.32	6.13	0.74
3.06	0.37	7.36	0.90

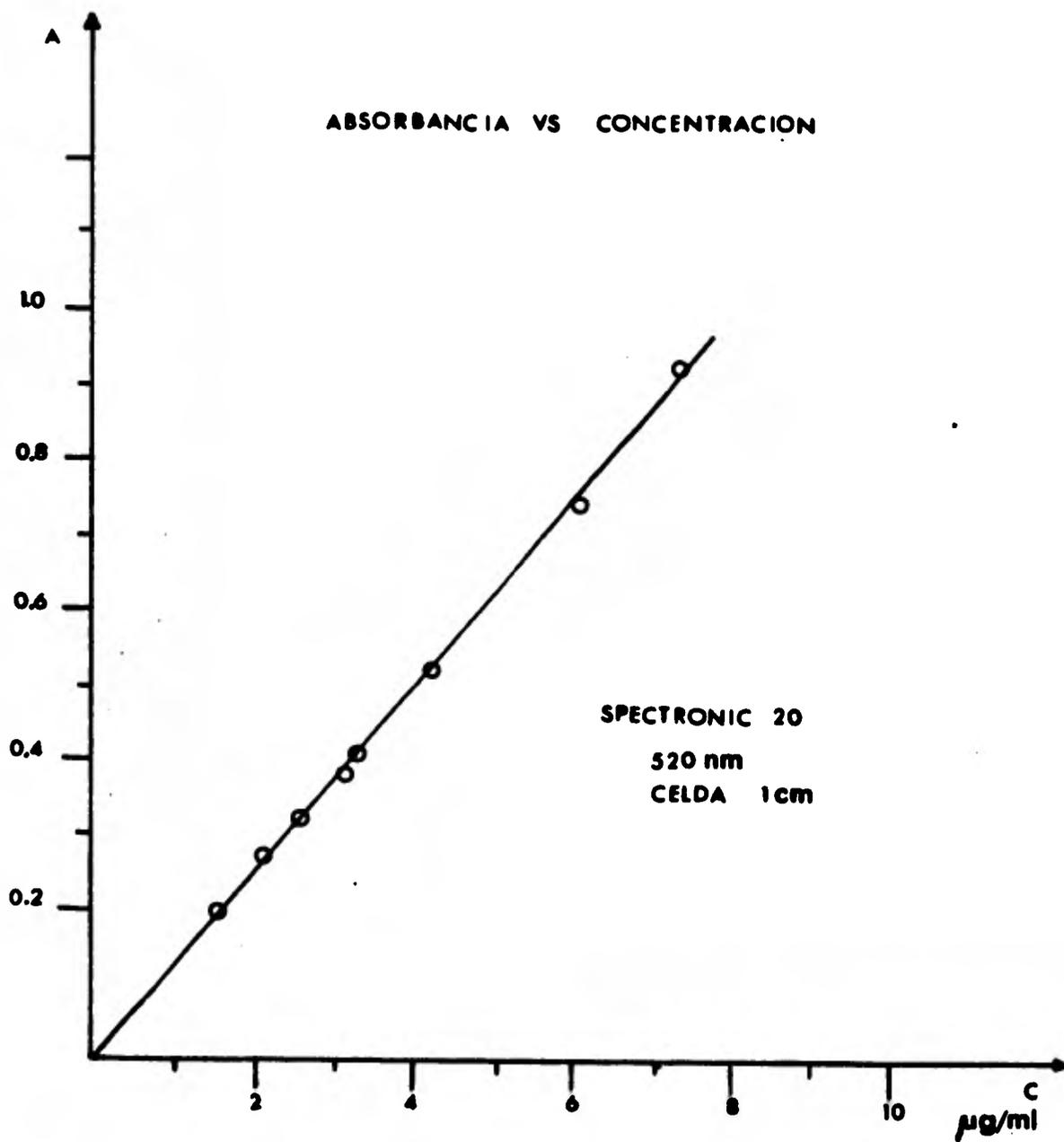
IV.2 MUESTRAS

El tratamiento previo a la extracción de todas las muestras fue el mismo, se empleó el método de adiciones patrón - para obtener lecturas comprendidas en la zona de máxima sensibilidad del aparato (0.2 - 0.8).

Las bebidas carbonatadas se sometieron a agitación magnética durante 15 minutos, antes de iniciar su tratamiento con el objeto de eliminar el gas.

Durante la digestión el color que tomaron las muestras fue diferente, así como el tiempo necesario para que ésta se completara; pues mientras algunas muestras quedaron completa-

CURVA DE CALIBRACION



CONDICIONES DE TRATAMIENTO Y EXTRACCION DE LAS MUESTRAS

Bebidas Refrescantes con gas Enlatadas

	- Sabor	- pH	- Color I	- Color II	- t_i	- t_f
Pepsi cola	cola	3.0	AP	A	25	30
Coca cola*	cola	3.0	AP	A	25	30
Coca cola	cola	3.0	AP	A	25	30
Mirinda	naranja	3.0	I	AP	15	30
Mirinda	manzana	3.0	I	AP	15	30
Wink	toronja	3.0	AP	A	15	30
Squirt*	toronja	3.0	AP	A	15	30
Pascual	limón	3.0	AP	A	15	30
Pascual	frambuesa	3.0	AP	A	15	30
Ginger Ale	gengibre	3.0	I	AP	15	30
Quinac	agua quinada	3.0	I	AP	15	30
Club Soda	agua minera- lizada	5.5	I	R	15	30

I = incolora; AP = amarillo pálido; A = amarillo; R = rosa

Color I: color después de la digestión

Color II: color a pH = 9.5

* muestras almacenadas 4 años

t_i = tiempo de calentamiento con H_2SO_4 y HNO_3

t_f = tiempo de calentamiento des-
pues de agregar H_2O_2

Bebidas refrescantes con gas embotelladas

	Sabor	pH	Color I	Color II	t _i	t _f
Pepsi cola	cola	3.0	AP	A	25	30
Coca cola	cola	3.0	AP	A	25	30
Mirinda	naranja	3.0	I	AP	15	30
Squirt	toronja	3.0	AP	A	15	30
Pascual	limón	3.0	I	AP	15	30
Pascual	naranja	3.0	I	AP	15	30
Pascual	manzana	3.0	I	AP	15	30
Pascual	toronja	3.0	I	AP	15	30
Ginger ale	gengibre	3.0	I	AP	15	30
Quinac	agua quinada	3.0	I	AP	15	30

Bebidas Refrescantes de fruta con gas enlatadas

Pascual	naranja	3.0	I	AP	15	30'
Pascual	manzana	3.0	I	AP	15	30
Pascual	toronja	3.0	I	AP	15	30

Bebidas Refrescantes de fruta sin gas enlatadas

	Sabor	pH	Color I	Color II	t _i	t _f
Pascual	naranja	3.0	I	A	30	30
Pascual	tamarindo	3.0	AP	A	30	30
Pascual	guayaba	3.0	AP	A	30	30
Pascual	piña	3.0	AP	A	30	30

Bebidas Refrescantes de fruta sin gas en tetra-päck

Pascual	naranja	3.0	I	A	30	30
Pascual	tamarindo	3.0	AP	A	30	30
Pascual	guayaba	3.0	AP	A	30	30
Pascual	piña	3.0	AP	A	30	30

Bebidas refrescantes de fruta sin gas en caja (1 l)

Pascual	tamarindo	3.0	AP	A	30	30
Pascual	guayaba	3.0	AP	A	30	30
Pascual	naranja	3.0	AP	A	30	30
Pascual	mango	3.0	AP	A	30	30
Pascual	manzana	3.0	AP	A	30	30

mente incoloras después del ataque ácido otras presentaban -- un color amarillo pálido. Después de fijar el pH (con --- NH_4OH) en el valor apropiado para realizar la extracción este color cambió, en aquellas que originalmente estaban incoloras tomaron un color amarillo pálido o rosa (color del indicador en medio alcalino) y aquellas que estaban amarillo pálido tomaron una tonalidad mas fuerte.

La curva de calibración se verificó regularmente; pero además cada vez que se hacían determinaciones en las muestras, se corría una alícuota de la solución patrón que se usaba en las adiciones de las muestras, así como un blanco con los -- reactivos para eliminar posibles errores. Todas las muestras se analizaron por triplicado; en las tablas siguientes aparecen las medias de dichos resultados.

Los refrescos de cola se trataron de manera similar al -- resto de las muestras, sin embargo en el momento de realizar la extracción la fase orgánica (ditizona en tetracloruro de carbono) permanecía inalterada, es decir, el ditizonato de -- plomo no se formaba en esas condiciones. Al analizar las posibles causas se encontró que la diferencia de estas muestras con las demás era que tenían grandes concentraciones de fierro y fosfato (PO_4^{3-}). La interferencia del fierro quedaba descartada pues el ditizonato de este metal se forma a valores de pH ácido y la otra forma como podría obstaculizar era oxidando la ditizona, sin embargo esto no estaba sucediendo pues los -- productos de descomposición del reactivo son de color amarillo

PLOMO CONTENIDO EN BEBIDAS REFRESCANTES

Bebidas Refrescantes con gas

	Sabor	pH	Conc. de Pb (ppm)	
			ENLATADAS	EMBOTELLADAS
Pepsi cola	cola	3.0	0.297 \pm 0.005	0.050 \pm 0.005
Coca cola *	cola	3.0	0.390	---
Coca cola	cola	3.0	0.280 \pm 0.005	0.047 \pm 0.005
Mirinda	naranja	3.0	0.247 \pm 0.005	0.040 \pm 0.005
Mirinda	manzana	3.0	0.297 \pm 0.005	---
Wink	toronja	3.0	0.217 \pm 0.005	---
Squirt *	toronja	3.0	0.330 \pm 0.005	---
Pascual	limón	3.0	0.250 \pm 0.005	0.050 \pm 0.005
Pascual	frambuesa	3.0	0.230 \pm 0.005	---
Pascual	toronja	3.0	---	0.037 \pm 0.005
Pascual	manzana	3.0	---	0.050 \pm 0.005
Ginger ale	gengibre	3.0	0.187 \pm 0.005	0.040 \pm 0.005
Quinac	agua quinada	3.0	0.300 \pm 0.005	0.080 \pm 0.005
Club Soda	agua minera- lizada	5.5	0.030 \pm 0.005	---

(*) muestra almacenada durante cuatro años

Bebidas Refrescantes de Fruta sin Gas

	Sabor	pH	% de pulpa y Conc de Pb (ppm)		
			LATA	TETRA - PACK	CAJA
Pascual	guayaba	3.0	17% 0.310 _{±0.005}	7% 0.067 _{±0.005}	17% 0.120 _{±0.005}
Pascual	tamarindo	3.0	12% 0.350 _{±0.005}	7% 0.110 _{±0.005}	12% 0.145 _{±0.005}
Pascual	naranja	3.0	30% 0.450 _{±0.005}	10% 0.140 _{±0.005}	30% 0.200 _{±0.005}
Pascual	piña	3.0	25% 0.327 _{±0.005}	8% 0.070 _{±0.005}	- - - - -
Pascual	mango	3.0	- - - - -	- - - - -	15% 0.100 _{±0.005}
Pascual	manzana	3.0	- - - - -	- - - - -	12% 0.157 _{±0.005}

Bebidas Refrescantes de Fruta con Gas Enlatadas

	Sabor	% pulpa	pH	Conc. de Pb (ppm)
Pascual	naranja	7%	3.0	0.310 _{±0.005}
Pascual	manzana	8%	3.0	0.297 _{±0.005}
Pascual	toronja	7%	3.0	0.270 _{±0.005}

y como se dijo la ditizona en solución no cambiaba de aspecto (permanecía verde). Por lo que el agente causante de que no se formara el ditizonato de plomo eran los iones fosfato. Al revisar la bibliografía se encontró que en presencia de -- cantidades grandes de fosfato la extracción debía realizarse a pH = 11 sin embargo no se especificaba la razón.

Se sabe que los iones fosfato interfieren principalmente por la precipitación en medio alcalino de algunos metales pero esto no podía suceder pues se había añadido citrato y tartrato para prevenir dicha precipitación, además en ningún momento durante la extracción se observó la presencia de algún precipitado. Por lo que la alternativa que quedaba era que el --- fosfato formara complejos con el plomo de una estabilidad tal que impidían que reaccionara con la ditizona, por lo que se investigaron estos posibles complejos y las condiciones en que se presentaban o podían destruirse sin embargo solo se menciona en la literatura que existen evidencias de la existencia de complejos Pb / PO_4^{3-} y la referencia proporcionada ²⁸ no se pudo conseguir.

CONCLUSIONES

Este trabajo forma parte de una serie de investigaciones realizadas en bebidas refrescantes acerca de su composición y posibles contaminantes. Se pensó en la probabilidad de que pudieran encontrarse contaminados con plomo por ser un metal que gracias a sus propiedades es de gran aplicación y su uso se ha difundido enormemente, sin embargo debido a su toxicidad éste debería verse restringido.

Las posibles fuentes de contaminación de los refrescos con plomo son muchas y muy variadas, todo esto aunado a características del producto en sí como son su pH (ácido), condiciones de almacenamiento y empaque con los que dicha contaminación se ve favorecida, pero que es necesario evitar pues -- resulta ser perjudicial para la salud en distintas formas que por lo general dejan secuelas permanentes e incluso fatales. Por lo que se ideó realizar la determinación de plomo en este tipo de producto utilizando un método accesible, barato y -- que proporcionara buenos resultados.

Para el tratamiento previo a la determinación de meta--- les pesados en alimentos se puede emplear la calcinación por vía húmeda, por vía seca, digestión a altas presiones, calcinación con oxígeno en tubos de combustión, sin embargo la mas simple y accesible de estas técnicas era la digestión en un medio oxidante, de ahí que se eligiera dicho método para el ataque de las muestras, precedente a su análisis colorimétrico que por su bajo costo y asequibilidad se eligió con respecto a la ----

Absorción atómica, Voltimetría y Espectrometría de emisión como método de determinación.

Dicho método resultó ser sumamente laborioso en todas -- sus partes (lavado de material, preparación y purificación -- de reactivos, tratamiento y extracción de la muestra) sin -- embargo los resultados obtenidos tanto en la curva de cali--- bración como en las determinaciones hechas en las muestras -- fueron satisfactorios; además toda la información encontrada contribuyó a un mejor entendimiento de los conceptos y prin-- cipios en que se fundamenta y la aplicación de manipulaciones que repercutieron en los resultados.

En cuanto a los resultados obtenidos no se puede decir - que estén por encima o por debajo de los " niveles de seguri- \ dad " pues como se indicó la toxicidad del plomo depende de - varios factores como edad, estado fisiológico, nutricional y genético de las personas, período de exposición, cantidad ingerida etc.; lo que sí es claro es que la cantidad que se de- terminó se encuentra en niveles que pueden ser perjudiciales, ya que, se trata de un producto de uso común en el cual el pre- cio no se podría considerar como un factor " atenuante " de di- cha contaminación pues éste es mayor en los productos que exis- te una contaminación mayor (entlatados).

Todos los refrescos tienen un pH ácido, lo que favorece la disolución del plomo proveniente del recipiente que lo --- contiene que, en el caso de los metálicos resultó ser mayor, de ahí la necesidad de evitar el empleo de aleaciones que con- tengan plomo en la fabricación de latas para la distribución - de alimentos; o en caso de usarlas, asegurarse que el recubri-

miento utilizado para la protección del producto cuyo objetivo es evitar el contacto de éste con la aleación, cumpla con su función.

Mediante este trabajo se deja establecido que, en un producto que la población consume con regularidad a pesar de su precio elevado, se encuentra presente una substancia que puede ser perjudicial para la salud. Tal vez en forma aislada este problema, es decir, la contaminación de refrescos con plomo, resulte de poca importancia y fácil resolución, sin embargo, hay que considerar en conjunto todas las fuentes por las que el hombre puede ingerir este contaminante y establecer los niveles de seguridad, fijando especificaciones estrictas en productos alimenticios, en el agua y el aire, que son vitales para la sobrevivencia del ser humano.

Es necesario entonces establecer normas que prevean todas las formas a través de las cuales el hombre absorbe plomo ya sea directa o indirectamente y considerarlas en forma conjunta para fijar niveles de seguridad de escrupulosa aplicación, logrando, si no solucionar el problema de la contaminación, evitar que continúe.

VI

BIBLIOGRAFIA

REVISTAS:

- (1) Bryce Smith, D. & Waldron, H. A. LEAD IN FOOD ARE TODAY'S REGULATIONS SUFFICIENT? Anal. Chim. Acta, 50, 201-206
- (2) Chisolm, K. LEAD POISONING Scientific American 224 (1971) 15 - 23
- (3) Cholak, J. MICRODETERMINATION OF LEAD IN BIOLOGICAL MATERIAL, Anal. Chem., 20 (1948) 671 -74
- (4) Forstner, G. E. THE OCURRENCE OF METALLIC CONTAMINANTS IN FOODS, Chem. & Ind. (1948) 499 - 501
- (5) Gegiou, D. & Botsivali, M. ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF LEAD IN BEVERAGES AND FRUIT JUICES Analyst, 100 (1975) 234 - 7
- (6) Huisingh, D. & Huisingh, J. FACTORS WICH INFLUENCE THE TOXICITY OF HEAVY METALS IN FOOD (traducción) Rev. Tecnol. Aliment. (Méx) 10 (1975) 145-68
- (7) Koops, J. et al SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF LEAD IN STERILIZED CANNED EVAPORATED MILK, Neth. Milk Dairy J. 31, (1977) 277-95

- (8) Lee, Y. S. et al A MICROMETHOD FOR LEAD IN CANNED BAY JUICES Microchemical J., 20 (1975) 319-23
- (9) Mathre, D. B. & Sandell, E. B. LEAD-DITHIZONE EQUILIBRA IN WATER - CARBON TETRACHLORIDE SYSTEMS, Talanta, 11 (1964) 295-314
- (10) Matson, W. R. MEASURING AN DETECTING TRACE METALS, Food Engeneering (1974) 46 - 8
- (11) Parada, E. et al DETERMINACION DEL CONTENIDO DE PLOMO EN ALIMENTOS ENLATADOS, Rev. Tecnol. Aliment. (Méx) 10 (1975) 170-3
- (12) Smith, A. E. A STUDY OF THE VARIATION WITH pH OF THE SOLUBILITY OF SOME METAL IONS AT LOW CONCENTRATIONS IN AQUEOUS SOLUTION, Part I, Analyst, 98, (1973) 65-8
- (13) Snyder, L. J. IMPROVED DITHIZONE METHOD FOR DETERMINATION OF LEAD, Anal. Chem 19 (1947) 684-7
- (14) Sturmpier, A. W. ADSORPTION CHARACTERISTICS OF SILVER, LEAD, CADMIUM, ZINC, AN NICKEL ON BOROSILICATE GLASS, POLYETHYLENE, AND POLYPROPYLENE CONTAINER SURFACES, Anal. Chem. 45 (1973) 2251-2254
- (15) Pervasive Lead Contamination Linked to Analytical Errors, Anal. Chem. 52 (1980) 636-637A

LIBROS:

- (16) Charlot, G. LIANALYSE QUELITATIVE ET LES REACTIONS EN SOLUTION, Masson el C^{1e} Editeurs, France (1957) 331-3
- (17) Kolthoff, I. M. et al AUANTITATIVE CHEMICAL ANALYSIS 4th. Ed., The Macmillan Company, U.S.A. (1969) 351-55 y 1064-65
- (18) Laboratory MANUAL FOR FOOD CANNERS AND PROCESSORS, Vol 2 3th. Ed. U.S.A. (1968) 242-6
- (19) LEAD World Health Organization, London (1977)
- (20) List of MAXIMUM LEVELS RECOMENDED FOR CONTAMINANTS BY THE JOINT FAO/WHO CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION 2d. Series Food Agricultural Organization of United Nations, Italy (1976)
- (21) Official METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS 13th. Ed. Published by the Association of Official Analytical Chemists, U.S.A. (1980) 397-404
- (22) Ringbom, A. FORMACION DE COMPLEJOS EN QUIMICA ANALITICA Ed. Alhambra, España (1919) Tablas
- (23) Sandell, E. B. COLORIMETRIC DETERMINATION OF TRACES OF METALS 4th. Ed. John Wiley & Sons, U.S.A. (1978) 579-647 135-77

- (24) Sandell, E. B. & Onishi, H. PHOTOMETRIC DETERMINATION OF TRACES OF METALS 4th. Ed. John Wiley & Sons, U.S.A. (1978) 579 - 647
- (25) Snell, F. D. & Snell, C. T. COLORIMETRIC METHODS OF ANALYSIS 3th. Ed. D. Van Nostrand Company, Inc., U.S.A. (1957) 1-43
- (26) Vogels's TEXT-BOOK OF PRACTICAL ORGANIC CHEMISTRY, Longman Group Limited, London (1978) 267-8, 1302-3
- (27) Wilson, H.N. AN APPROACH TO CHEMICAL ANALYSIS, Pergamon Press, London (1966), 85 -93
- (28) Chatterji, A. C. & Bhatnagar, R. M. Proc. Symp. Chem Co-ord Comp. Allahabad Feb 1959, 1 , 145